

10/585329

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/FR05/000040

International filing date: 07 January 2005 (07.01.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: FR
Number: 0400123
Filing date: 08 January 2004 (08.01.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 18 March 2005 (18.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 10 JAN. 2005

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIÈGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DR 540 0 W / 210502

REMISE DES PIÈCES DATE 75 INPI PARIS 34 SP LIEU 0400123 N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 08 JAN. 2004		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BECKER & ASSOCIES 35 rue des Mathurins 75008 PARIS	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B0255FR			
Confirmation d'un dépôt par télécopie		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
2 NATURE DE LA DEMANDE Demande de brevet Demande de certificat d'utilité Demande divisionnaire <i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		Cochez l'une des 4 cases suivantes <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> N° _____ Date _____ N° _____ Date _____ N° _____ Date _____	
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Composés dérivés de 1,3-diphénylprop-2-én-1-one, préparation et utilisations			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)		<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique	
Nom ou dénomination sociale Prénoms Forme juridique N° SIREN Code APE-NAF		GENFIT Société Anonyme 4 2 4 3 4 1 9 0 7 7 3 1 2 Parc Eurasanté - Lille Métropole 885, avenue Eugène Avinée	
Domicile ou siège Rue Code postal et ville Pays		59 120 LOOS FRANCE Française	
Nationalité N° de téléphone (facultatif) Adresse électronique (facultatif)		N° de télécopie (facultatif)	
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»			

Remplir impérativement la 2^{ème} page


**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**
REQUÊTE EN DÉLIVRANCE
page 2/2

BR2

REMISE DES PIÈCES	6 JAN 2004
DATE	75 INPI PARIS 34 SP
LIEU	0400123
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	

DB 540 W / 210502

6 MANDATAIRE (s'il y a lieu) Nom Prénom Cabinet ou Société N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel Adresse Rue Code postal et ville Pays N° de téléphone (facultatif) N° de télécopie (facultatif) Adresse électronique (facultatif)		TEZIER HERMAN Béatrice BECKER & ASSOCIES 00-10000 35 rue des Mathurins 75 010 8 Paris France 01 53 43 85 00 01 53 43 85 05 btezier@becker.fr
7 INVENTEUR (S) Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
8 RAPPORT DE RECHERCHE Établissement immédiat ou établissement différé		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) <input checked="" type="checkbox"/> Établissement immédiat <input type="checkbox"/> Établissement différé
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG
10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS Le support électronique de données est joint La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe		<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences <input type="checkbox"/>
Si vous avez utilisé l'imprimé « Suite », indiquez le nombre de pages jointes		
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Béatrice TEZIER HERMAN CPI 00-10000		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI L. MARIELLO

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

COMPOSES DERIVES DE 1,3-DIPHENYLPROP-2-EN-1-ONE, PREPARATION ET UTILISATIONS

5 La présente invention concerne des dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués, les compositions pharmaceutiques et/ou cosmétiques les comprenant, leurs applications en thérapeutique et/ou en cosmétique, notamment dans les domaines de la santé humaine et animale. La présente invention a également trait à un procédé de préparation de ces dérivés.

10 Les composés selon l'invention représentent un outil thérapeutique avantageux pour l'amélioration des pathologies liées aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique (hyperlipidémie, diabète, obésité etc.) et sont utilisables notamment pour prévenir ou traiter les maladies cardiovasculaires (notamment les maladies coronariennes, l'ischémie cérébrale et les maladies
15 artérielles périphériques), les dyslipidémies, le syndrome X, le diabète, l'obésité, l'hypertension, les maladies inflammatoires, les maladies dermatologiques (psoriasis, dermatites atopiques, acné..), les désordres liés au stress oxydatif, les effets du vieillissement en général, par exemple le vieillissement cutané, notamment dans le domaine cosmétique (l'apparition de rides, etc.). Les
20 composés selon l'invention sont capables d'exercer une activité prophylactique en terme de neuroprotection, et également d'assurer une neuroprotection active dans la phase aiguë des accidents ischémiques cérébraux, qui constituent une des complications majeures des affections cardiovasculaires.

25 Par leur action simultanée sur plusieurs facteurs de risque des maladies cardiovasculaires, les composés selon l'invention permettent une diminution du risque cardiovasculaire global.

30 Les maladies coronariennes, l'ischémie cérébrale et les maladies artérielles périphériques constituent les principales maladies cardiovasculaires selon l'International Atherosclerosis Society (*Harmonized Clinical Guidelines on Prevention of Atherosclerotic Vascular Disease*, 2003).

 Les maladies cardiovasculaires représentent aujourd'hui une des causes majeures de mortalité chez l'adulte dans la plupart des pays développés et dans

certaines pays en voie de développement. Parmi les maladies cardiovasculaires, la pathologie vasculaire cérébrale représente la 3^{ème} cause de mortalité et la 1^{ère} cause de handicap chez l'adulte. Le besoin de stratégies de traitement et/ou de prévention efficaces contre ces pathologies est devenu une urgence mondiale.

5

Les dyslipidémies (l'hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie), le diabète et l'hypertension font partie des facteurs de risque cardiovasculaire clairement identifiés (IAS, 2003). Il semble également qu'une protection insuffisante des lipoprotéines contre l'oxydation soit un facteur de risque identifié.

10

Les études épidémiologiques ont montré qu'il existe un effet synergique entre ces différents facteurs. La présence concomitante de plusieurs d'entre eux conduit à une aggravation dramatique du risque cardiovasculaire. Il convient alors de parler de risque global (*global risk*) pour les maladies cardiovasculaires.

15

Il existe donc un réel besoin de produits capables d'agir de façon concomitante sur ces différents facteurs de risque et donc de diminuer le risque des maladies cardiovasculaires mais également de traiter chaque dérèglement et ses conséquences pris indépendamment (dyslipidémies, diabète, hypertension, ischémie cérébrale, syndrome X, obésité ...).

20

Les inventeurs ont montré, de manière surprenante, que les composés selon l'invention sont des activateurs PPAR et qu'ils représentent donc un outil thérapeutique avantageux.

25

Il est bien connu en effet que les PPARs sont associés au métabolisme des lipides et du glucose. Les activateurs de PPARs, les fibrates par exemple, permettent de réguler le cholestérol plasmatique ainsi que la concentration de triglycérides via l'activation de PPAR α (Hourton, Delerive *et al.* 2001). Le traitement avec des fibrates entraîne une augmentation de l'oxydation des acides gras au niveau hépatique. Ils réduisent également la synthèse et l'expression des triglycérides (Staels and Auwerx 1998). Les activateurs de PPAR α sont également

30

capables de corriger une hyperglycémie ainsi que la concentration d'insuline. Les fibrates diminuent par ailleurs la masse du tissu adipeux grâce à un mécanisme indépendant de la prise alimentaire et de l'expression du gène codant pour la leptine (Guerre-Millo, Gervois *et al.* 2000).

L'intérêt thérapeutique des agonistes PPAR γ a été largement étudié dans le traitement du diabète de type II (Spiegelman 1998). Il a été montré que les agonistes PPAR γ permettent la restauration de la sensibilité à l'insuline des tissus cibles ainsi que la réduction des taux plasmatiques de glucose, de lipides et d'insuline aussi bien dans des modèles animaux de diabète de type II que chez l'homme (Ram 2003).

L'activation des PPARs par les ligands intervient également dans la régulation de l'expression de gènes participant à des processus comme l'inflammation, l'angiogenèse, la prolifération et la différenciation cellulaires, l'apoptose et les activités de iNOS, de la MMPase et des TIMPs. L'activation de PPAR α dans des kératinocytes entraîne un arrêt de leur prolifération et de l'expression de gènes impliqués dans la différenciation cellulaire (Komuves, Hanley *et al.* 2000). Les PPARs ont des propriétés anti-inflammatoires car ils interfèrent négativement dans des mécanismes de transcription impliquant d'autres facteurs de transcription tels que NF-kB ou les activateurs de la transcription (STAT) et AP-1 (Desvergne and Wahli 1999). Ces propriétés anti-inflammatoires et anti-prolifératives font des PPARs des cibles thérapeutiques d'intérêt pour le traitement de maladies comme les maladies occlusives vasculaires (athérosclérose, etc.), l'ischémie cérébrale, l'hypertension, les maladies liées à une néo-vascularisation (rétinopathies diabétiques, etc.), les maladies inflammatoires (maladie de Bowel, psoriasis, etc.) et les maladies néoplasiques (carcinogenèse, etc.).

De plus, les composés selon l'invention présentent l'avantage d'être des antioxydants.

Les radicaux libres interviennent en effet dans un spectre très large de pathologies comme les pathologies cardiovasculaires (athérosclérose, etc.), l'ischémie cérébrale, les désordres génétiques et métaboliques (diabètes, etc.) mais également les maladies infectieuses et dégénératives (Alzheimer, Parkinson, Prion, etc.), les problèmes ophtalmiques, le vieillissement, les allergies, l'initiation et la promotion cancéreuse (Mates, Perez-Gomez *et al.* 1999).

Les espèces réactives oxygénées (ROS) sont produites pendant le fonctionnement normal de la cellule. Les ROS sont constituées de radicaux

hydroxyle ($\cdot\text{OH}$), de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de l'oxyde nitrique (NO^\cdot). Ces espèces sont très labiles et du fait de leur grande réactivité chimique, elles peuvent également constituer un danger pour les fonctions biologiques des cellules en provoquant des réactions de peroxydation lipidique, l'oxydation de certaines enzymes et des oxydations très importantes de protéines qui mènent à leur dégradation.

La prise en charge des ROS se fait via un système antioxydant comprenant une composante enzymatique (superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) et une composante non enzymatique (essentiellement les caroténoïdes, la vitamine C et la vitamine E (Gilgun-Sherki, Melamed *et al.* 2001)).

De plus, les résultats de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont montré la participation potentielle des LDL (low density lipoproteins) oxydées à l'athérosclérose. La plaque d'athérosclérose à développement lent comporte un noyau riche en cholestérol entouré d'une coque de tissus fibreux. La fissuration de la plaque est de plus en plus considérée comme le résultat de modifications inflammatoires chroniques dans la région de la coque fibreuse. Les médiateurs de l'inflammation tels que les cytokines influencent plusieurs processus biologiques dans la coque fibreuse de la plaque, diminuant sa résistance à la rupture.

Les cytokines inflammatoires dans la plaque athéromateuse, dont l'interleukine 1, le facteur de nécrose tumorale ($\text{TNF-}\alpha$ et l'homologue de surface de $\text{TNF}\alpha$ appelé CD-40 ligand) conduisent à la production par les macrophages et les cellules musculaires lisses d'enzymes qui peuvent affaiblir la matrice extracellulaire. De la fissuration de la coque peuvent résulter des thromboses occlusives.

Enfin, les composés selon l'invention sont des outils thérapeutiques avantageux pour le traitement et/ou la prévention de l'ischémie cérébrale de par leurs propriétés pharmacologiques et notamment anti-inflammatoires.

Le premier événement de l'ischémie cérébrale survient dans les premières heures, et consiste en une libération massive de glutamate qui aboutit à une dépolarisation neuronale ainsi qu'à un œdème cellulaire. L'entrée de calcium dans la cellule induit des dégâts mitochondriaux favorisant la libération de radicaux

libres ainsi que l'induction d'enzymes qui provoquent la dégradation membranaire des neurones. L'entrée de calcium et la production de radicaux libres activent à leur tour certains facteurs de transcription, comme NF- κ B. Cette activation induit des processus inflammatoires comme l'induction de protéines d'adhésion au
5 niveau endothélial, l'infiltration du foyer ischémique par les polynucléaires neutrophiles, l'activation microgliale, l'induction d'enzymes comme l'oxyde nitrique (NO) synthase de type II ou la cyclooxygenase de type II. Ces processus inflammatoires conduisent à la libération de NO ou de prostanoïdes qui sont toxiques pour la cellule. L'ensemble de ces processus aboutit à un phénomène
10 d'apoptose provoquant des lésions irréversibles (Dimagi, Iadecola *et al.* 1999).

Le concept de neuroprotection prophylactique s'appuie sur des bases expérimentales mettant en évidence une résistance vis-à-vis de l'ischémie dans des modèles animaux. Différents mécanismes de résistance à l'ischémie
15 cérébrale ont été mis en évidence : cytokines, voies de l'inflammation, radicaux libres, NO, canaux potassique ATP dépendant, adénosine. Les composés selon l'invention présentent ainsi l'avantage de jouer le rôle de neuroprotecteur.

La présente invention concerne de nouveaux dérivés de 1,3-diphénylprop-
2-èn-1-one substitués, des compositions pharmaceutiques et/ou cosmétiques les
20 comprenant, leurs applications en thérapeutique et/ou en cosmétique, notamment dans les domaines de la santé humaine et animale. La présente invention a également trait à un procédé de préparation de ces dérivés.

Les inventeurs ont mis en évidence, de manière surprenante, que les composés selon l'invention possèdent une activité PPAR agoniste et des
25 propriétés antioxydantes. Les composés selon l'invention sont donc capables d'interférer avec au moins deux voies de signalisation qui sont activées en particulier pendant l'inflammation : la production de cytokines ainsi que la production de radicaux libres. En agissant de manière synergique les composés selon l'invention représentent un moyen thérapeutique et/ou cosmétique
30 avantageux pour le traitement des maladies cardiovasculaires, du syndrome X, des dyslipidémies, du diabète, de l'obésité, de l'hypertension, des maladies inflammatoires, des maladies dermatologiques (psoriasis, dermatites atopiques, acné..), des désordres liés au stress oxydatif, du vieillissement en général, par

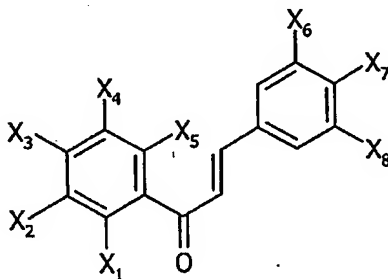
exemple du vieillissement cutané, notamment dans le domaine cosmétique (l'apparition de rides, etc.).

D'autre part, les composés selon l'invention sont capables d'exercer une activité prophylactique en terme de neuroprotection, et également d'assurer une neuroprotection active dans la phase aiguë des accidents ischémiques cérébraux.

Enfin, les composés selon l'invention représentent un outil thérapeutique avantageux pour prévenir et/ou traiter plusieurs facteurs de risque cardiovasculaires liés aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique (hyperlipidémie, diabète, obésité etc.). Ils permettent la diminution du risque global.

La présente invention a donc pour but de proposer de nouveaux dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués présentant une formule améliorée et une efficacité thérapeutique satisfaisante.

Ces buts et d'autres sont atteints par la présente invention qui a notamment pour objet des dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués de formule générale (I) suivante :



(I)

dans laquelle :

X₇ représente un groupement répondant à la formule suivante : G₇-R₇ dans laquelle G₇ est un atome d'oxygène ou de soufre et R₇ est une chaîne alkyle telle que définie ci-après, substituée par un groupement du groupe 1 ou un groupement

du groupe 2, R_7 peut éventuellement être également substitué par un groupement aryle,

les substituants du groupe 1 sont choisis parmi les groupements carboxy de formule : $-\text{COOR}_a$, les groupements carbamoyles de formule : $-\text{CONR}_b\text{R}_c$ ou le groupement tetrazolyle,

les substituants du groupe 2 sont choisis parmi l'acide sulfonique ($-\text{SO}_3\text{H}$) et les groupements sulfonamide de formule : $-\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$,

avec R_a , R_b et R_c , identiques ou différents, représentant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle substitué ou non,

les groupements X_i avec $i = 1, 2, 3, 4$ ou 5 , identiques ou différents, représentent un atome d'halogène ou un groupement thionitroso ou répondent respectivement à la formule $(\text{G}-\text{R}_i)_n-\text{G}'-\text{R}'_i$ dans laquelle :

- n peut prendre les valeurs 0 ou 1
- G_i et G'_i , identiques ou différents, représentent une simple liaison, un atome d'oxygène ou un atome de soufre,
- R_i et R'_i , identiques ou différents, représentent un radical alkyle, alkényle, aryle ou un hétérocycle;
- R'_i peut également représenter un atome d'hydrogène,

les groupements X_i avec $i = 6$ ou $i = 8$, identiques ou différents, représentent un atome d'halogène ou répondent à la formule $\text{G}'_i-\text{R}'_i$, G'_i et R'_i étant tels que définis précédemment, X_6 et X_8 ne représentant pas simultanément un atome d'hydrogène,

X_i avec $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$ ou 8 ne pouvant représenter un hétérocycle directement lié au cycle aromatique de la 1,3-diphényl prop-2-én-1-one,

à l'exclusion des composés de formule (I) pour lesquels simultanément :

- un des groupements X_1, X_2, X_3, X_4 ou X_5 est un groupement hydroxyle,
- G_7 est un atome d'oxygène,
- et un des groupements X_6 ou X_8 est un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un hydroxyle ou un groupement alkyloxy,

à l'exclusion des composés de formule (I) pour lesquels simultanément :

- les groupements X_1 , X_2 et X_4 représentent simultanément un atome d'hydrogène,
- et un des groupements X_3 ou X_5 représente un atome d'hydrogène ou un halogène ou un radical alkyle ou un radical alkyloxy ou un radical alkylthio ou un groupement hydroxyle ou un groupement thiol ou un groupement thionitroso.

De manière préférentielle, un objet particulier de l'invention concerne les composés de formule générale (Ia) qui correspondent aux composés de formule générale (I) dans laquelle X_1 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.

De manière préférentielle, la présente invention concerne des composés de formule générale (Ib) qui correspondent aux composés de formule générale (I) dans laquelle X_2 et X_4 sont des radicaux alkyle et plus avantageusement dans laquelle X_1 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.

Un objet particulier de l'invention concerne les composés de formule générale (Ic) qui sont des composés de formule générale (I) dans laquelle X_1 , X_3 et X_4 sont des radicaux alkyle.

Un autre objet particulier de l'invention concerne les composés de formule générale (Id) qui sont des composés de formule générale (I) dans laquelle X_1 , X_2 , X_4 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.

Un autre objet de l'invention concerne les composés de formule générale (II) qui sont des composés de formule générale (I) dans laquelle X_6 et X_8 sont des radicaux alkyle.

De manière encore plus préférentielle, les composés de formule générale (II) sont ceux dans laquelle X_1 et X_5 sont des atomes d'hydrogène et avantageusement dans laquelle X_2 et X_4 sont des radicaux alkyle.

Un autre objet particulier de l'invention concerne les composés de formule générale (II) dans laquelle X_1 , X_3 , X_4 , X_6 et X_8 sont des radicaux alkyle.

5 Un autre objet particulier de l'invention concerne les composés de formule générale (II) dans laquelle X_6 et X_8 sont des radicaux alkyles et X_1 , X_2 , X_4 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.

10 Selon un aspect particulier de l'invention, les composés de formule de formule (I) sont tels que définis ci-avant avec X_3 qui représente un atome d'halogène ou un groupement thionitroso ou répond à la formule $(G_i-R_i)_n-G'_i-R'_i$ telle que définie antérieurement, dans laquelle G'_i représente un atome d'oxygène ou un atome de soufre.

15 La présente invention inclut également les isomères optiques et géométriques, les racémates, les tautomères, les sels, les hydrates et les mélanges des composés selon l'invention.

20 La présente invention inclut également de préférence les prodrogues des composés selon l'invention, qui, après administration chez un sujet, se transforment en composés selon l'invention et/ou les métabolites des composés selon l'invention qui présentent des activités thérapeutiques comparables aux composés selon l'invention.

25 De manière préférentielle, au moins un des groupements G_i ou G'_i représente un atome de soufre avec i pouvant prendre une des valeurs 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8.

30 Dans le cadre de la présente invention, les dérivés selon l'invention tels que décrits ci-dessus peuvent adopter la conformation *cis* ou *trans*.

Selon la présente invention, le terme « alkyle » désigne un radical hydrocarboné saturé, linéaire, ramifié ou cyclique, halogéné ou non, ayant plus particulièrement de 1 à 24, de préférence 1 à 10, atomes de carbone tels que

méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, n-butyle, isobutyle, tertibutyle, pentyle, néopentyle, n-hexyle, ou cyclohexyle. Les groupes comportant un ou deux atomes de carbone ou comportant de deux à sept atomes de carbone sont particulièrement préférés. Les groupes méthyle et éthyle sont tout particulièrement préférés.

5

Selon la présente invention, le terme « alkényle » désigne un radical hydrocarboné insaturé, linéaire, ramifié ou cyclique, halogéné ou non, ayant plus particulièrement de 1 à 24, de préférence 1 à 10, atomes de carbone.

10

Selon la présente invention, le terme « aryle » désigne un radical hydrocarboné aromatique substitué ou non, en particulier substitué par au moins un atome d'halogène, un radical alkyle, hydroxyle, thiol, alkyloxy, alkylthio, oxime ou thionitroso. Les groupes phényles sont tout particulièrement préférés.

15

Selon la présente invention, le terme « hétérocycle » désigne un radical cyclique saturé ou insaturé ou aromatique comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que azote, soufre et oxygène. Ils peuvent être substitués, avantageusement par au moins un groupement alkyle tel que défini précédemment. Les hétérocycles tels que dithiolanes, pyridine, furanne, thiophène ou morpholine sont particulièrement préférés. Dans le cadre de la présente invention, les hétérocycles pipéridine et pipérazine sont avantageusement substitués par au moins un groupement alkyle tel que défini précédemment.

20

Le terme thionitroso fait référence à un groupement nitroso lié au cycle aromatique par l'intermédiaire d'un atome de soufre.

25

Le terme alkyloxy fait référence à une chaîne alkyle liée au cycle par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène. La chaîne alkyle répond à la définition précédemment énoncée.

30

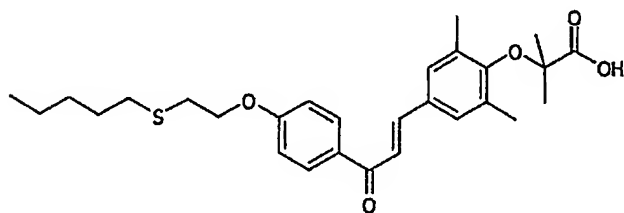
Le terme alkylthio fait référence à une chaîne alkyle liée au cycle aromatique par l'intermédiaire d'un atome de soufre (liaison thioéther). La chaîne alkyle répond à la définition précédemment énoncée.

- 5 L'atome d'halogène est de préférence un atome de chlore, brome, iode ou fluor.

Selon un mode particulier de l'invention, les composés préférés sont indiqués ci-dessous avec les formules qui leur sont associées :

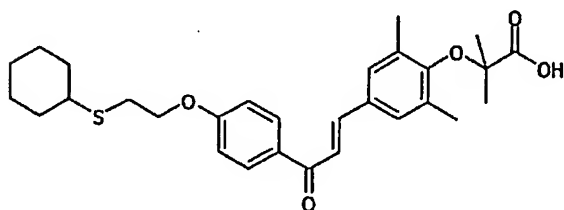
10

La 1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

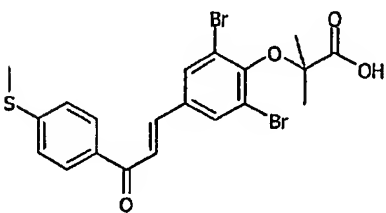


15

La 1-(4-(Cyclohexylthioéthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

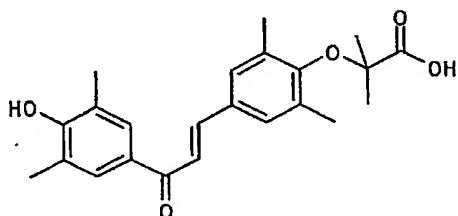


La 1-(4-Méthylthiophényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-dibromophényl)-prop-2-èn-1-one :



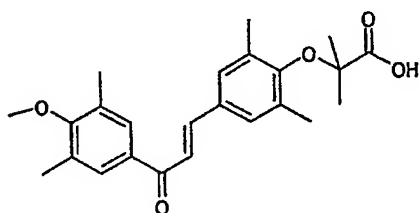
20

La 1-(4-Hydroxy-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)prop-2-èn-1-one :



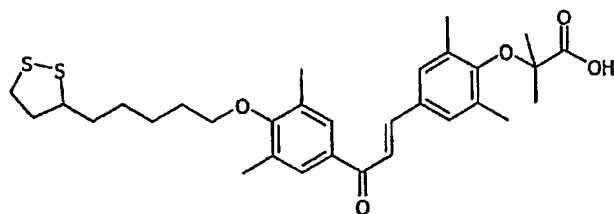
La 1-(4-Méthoxy-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

5

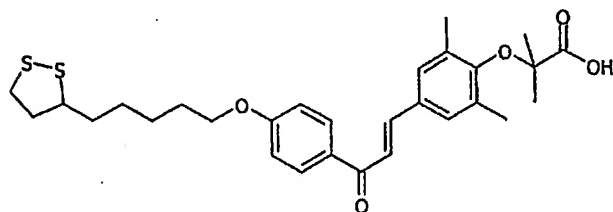


La 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentyloxy)-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

10

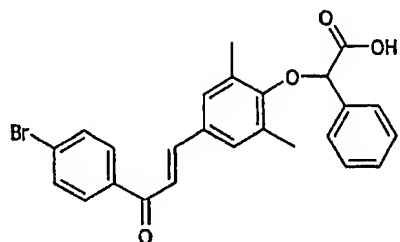


La 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentyloxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

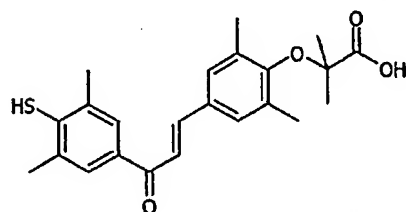


15

La 1-(4-Bromophényl)-3-(4-carboxyphénylméthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

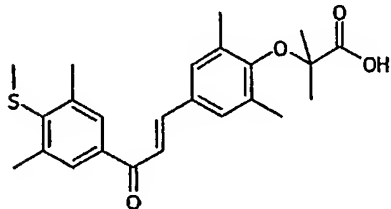


La 1-(4-Mercapto-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthyl phényl)-prop-2-èn-1-one :



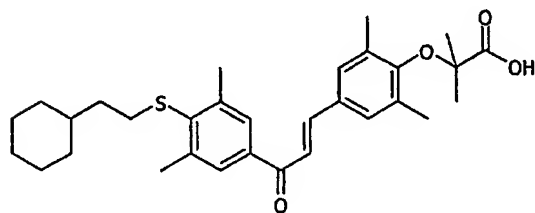
5

La 1-(4-Méthythio-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthyl phényl)-prop-2-èn-1-one :

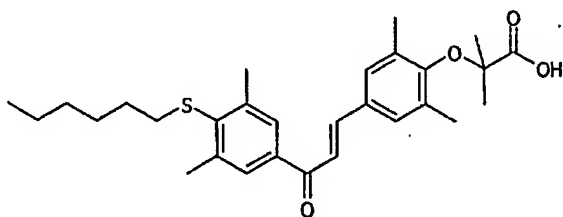


10

La 1-(4-Cyclohexyléthythio-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

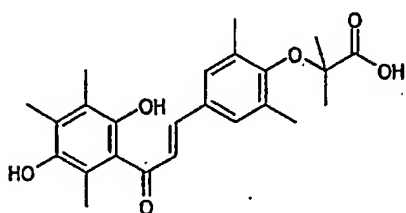


La 1-(4-Hexylthio-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthyl phényl)-prop-2-èn-1-one :

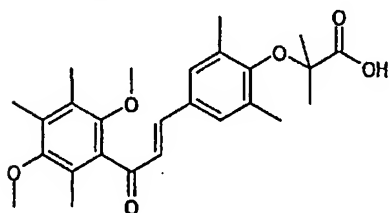


La 1-(2,5-Dihydroxy-3,4,6-triméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

5

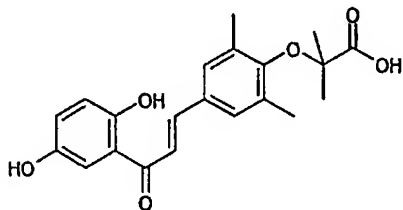


La 1-(2,5-Diméthoxy-3,4,6-triméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :



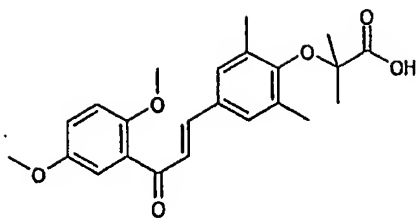
10

La 1-(2,5-Dihydroxyphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

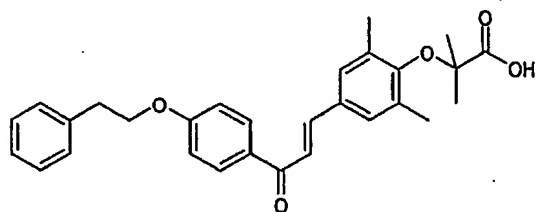


La 1-(2,5-Diméthoxyphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

15

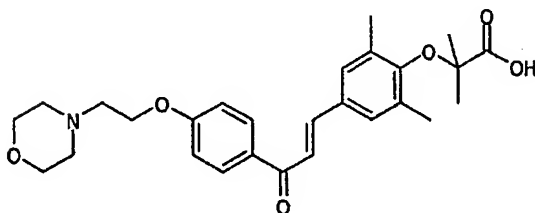


La 1-(4-Phényléthyloxyphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :



5

La 1-(4-(Morpholin-4-yléthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :



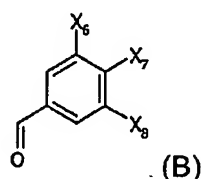
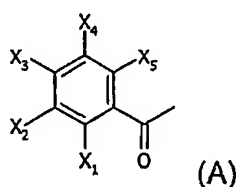
10

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation de composés de formule (I).

Ce procédé de préparation présente de nombreux avantages. Il est simple à mettre en œuvre industriellement et permet d'obtenir un rendement élevé en composés de formule (I).

15

Le procédé de la présente invention comprend une mise en contact en milieu basique ou en milieu acide d'au moins un composé de formule (A) avec au moins un composé de formule (B), les formules (A) et (B) étant :



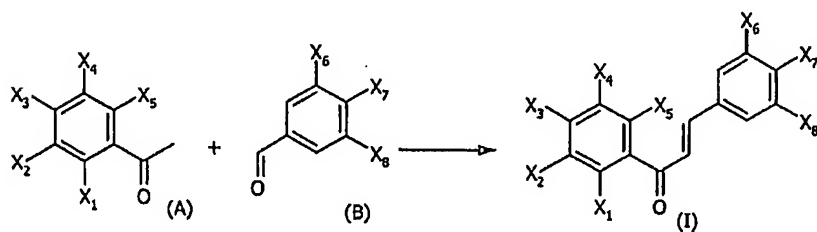
5 formules dans lesquelles X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 et X_7 ont les définitions données précédemment, X_7 peut également représenter un groupement hydroxyle ou thiol. Les conditions de mise en œuvre de cette réaction en milieu acide ou basique sont à la portée de l'homme du métier et peuvent varier dans une large mesure.

10 La mise en contact de ces deux composés est avantageusement réalisée de manière stœchiométrique. Elle est réalisée de préférence à une température ambiante (entre environ 18°C et 25°C) et à pression atmosphérique.

15 En milieu basique, la réaction est de préférence réalisée en présence d'une base, tel qu'un hydroxyde de métal alcalin, comme l'hydroxyde de sodium ou un alcoolate de métal alcalin comme l'éthylate de sodium.

En milieu acide, la réaction est de préférence réalisée en présence d'un acide fort, tel que l'acide chlorhydrique.

20 Le schéma réactionnel peut être représenté comme suit :



La synthèse en milieu basique peut être réalisée de la façon suivante :

La cétone (composé (A)) à 1 équivalent-molaire et l'aldéhyde (composé (B)) à 1 équivalent-molaire sont solubilisés dans une solution hydroalcoolique d'hydroxyde de sodium à 20 équivalents-molaire. L'ensemble est agité pendant environ 18 heures à température ambiante (entre 18 et 25°C). Le milieu est ensuite acidifié (pour atteindre en particulier un pH d'environ 2) notamment avec de l'acide chlorhydrique.

La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée attendue peut être obtenue par précipitation ou extraction solide/liquide après évaporation du milieu réactionnel. Elle peut être ensuite purifiée par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

La synthèse en milieu acide peut être réalisée de la façon suivante :

La cétone (composé (A)) à 1 équivalent-molaire et l'aldéhyde (composé (B)) à 1 équivalent-molaire sont solubilisés dans une solution d'éthanol saturée d'acide chlorhydrique gazeux. L'ensemble est agité à température ambiante pendant environ 6 heures, le solvant est éliminé, notamment par évaporation sous pression réduite. La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée est purifiée, notamment par chromatographie sur gel de silice.

Le procédé de préparation des composés de formule (I) permet de préparer des composés appelés ci-dessous composés intermédiaires. La présente invention a également pour objet certaines matières premières et composés intermédiaires obtenus dans le cadre de la présente invention.

Ces composés intermédiaires sont plus particulièrement choisis parmi :

- 1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)prop-2-èn-1-one
- 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentoxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one
- 1-(4-Méthylthiophényl)-3-(4-hydroxy-3,5-dibromophényl)prop-2-èn-1-one

La présente invention a aussi pour objet les composés de formule générale (I) tels que décrits ci-dessus, à titre de médicaments.

5 La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique et/ou cosmétique comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique et/ou cosmétique, au moins un composé de formule générale (I) tel que décrit ci-dessus, éventuellement en association avec un autre actif thérapeutique et/ou cosmétique.

10 Il s'agit avantageusement d'une composition pharmaceutique et/ou cosmétique pour le traitement des maladies cardiovasculaires, des dyslipidémies, du syndrome X, du diabète, de l'obésité, de l'hypertension, des maladies inflammatoires, des maladies dermatologiques (psoriasis, dermatites atopiques, acné...), des désordres liés au stress oxydatif, du vieillissement en général et par exemple du vieillissement cutané notamment dans le domaine cosmétique
15 (l'apparition de rides, etc.).

D'autre part, les compositions pharmaceutiques et/ou cosmétiques selon l'invention sont capables d'exercer une activité prophylactique en terme de neuroprotection, et également permettent d'assurer une neuroprotection active dans la phase aiguë des accidents ischémiques cérébraux. Enfin, il s'agit
20 avantageusement d'une composition pharmaceutique et/ou cosmétique pour prévenir et/ou traiter l'apparition de plusieurs facteurs de risque cardiovasculaires liés aux dérèglements du métabolisme lipidique et/ou glucidique (hyperlipidémie, diabète, obésité etc.) en permettant la diminution du risque global.

25 L'invention concerne aussi l'utilisation d'au moins un composé de formule (I) pour la préparation d'une composition pharmaceutique et/ou cosmétique destinée à la mise en œuvre d'une méthode de traitement ou de prophylaxie du corps humain ou animal.

30 L'invention concerne également une méthode de traitement des pathologies liées au métabolisme des lipides et/ou des glucides comprenant l'administration à un sujet, notamment humain, d'une dose efficace d'un composé ou d'une composition pharmaceutique tels que définis ci-avant.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention comprennent avantageusement un ou plusieurs excipients ou véhicules, acceptables sur le plan pharmaceutique. On peut citer par exemple des solutions salines, physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, stabilisants, conservateurs, etc. Des agents ou véhicules utilisables dans des formulations (liquides et/ou injectables et/ou solides) sont notamment la méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, des huiles végétales, l'acacia, etc. Les compositions peuvent être formulées sous forme de suspensions injectables, gels, huiles, comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, etc., éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

Les composés ou compositions selon l'invention peuvent être administrés de différentes manières et sous différentes formes. Ainsi, ils peuvent être injectés par voie orale ou systémique, comme par exemple par voie intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée, trans-dermique, intra-artérielle, etc. Pour les injections, les composés sont généralement conditionnés sous forme de suspensions liquides, qui peuvent être injectées au moyen de seringues ou de perfusions, par exemple. Il est entendu que le débit et/ou la dose injectée peuvent être adaptés par l'homme du métier en fonction du patient, de la pathologie, du mode d'administration, etc. Typiquement, les composés sont administrés à des doses pouvant varier entre 1 µg et 2g /administration, préférentiellement de 0,1 mg à 1 g /administration. Les administrations peuvent être quotidiennes ou répétées plusieurs fois par jour, le cas échéant. D'autre part, les compositions selon l'invention peuvent comprendre, en outre, d'autres agents ou principes actifs.

LEGENDE DES FIGURES :

Les Figures 1a, 1b, 1c illustrent le caractère antioxydant du composé 2 (Cpd 2) selon l'invention.

5 **La figure 1a** représente la cinétique de formation de diènes conjugués au cours du temps. La Lag-Phase est de 120 minutes lorsque les LDL sont incubées avec le cuivre seul. Ce délai est de 314 minutes lorsque le milieu contient également le composé 2.

10 **La figure 1b** illustre la vitesse de formation des diènes. Celle-ci est de 1.8 nmol/min/mg de LDL en présence de cuivre seul, elle n'est plus que de 0,1 nmol/min/mg de LDL lorsque le composé 2 est présent dans le milieu.

15 **La figure 1c** représente la quantité maximale de diènes formés au cours de l'expérience. Le cuivre seul induit la formation de 372 nmol/mg de diènes conjugués, cette quantité est de 35 nmol/mg quand le milieu contient également le composé 2, ce qui représente une diminution de 90% de la quantité de diènes formés.

Les Figures 2a, 2b, 2c illustrent le caractère antioxydant des composé 4 (Cpd 4), composé 6 (Cpd 6) et composé 8 (Cpd 8) selon l'invention.

20 **La figure 2a** représente la cinétique de formation de diènes conjugués.

La Lag-Phase est de 132 minutes lorsque les LDL sont incubées avec le cuivre seul. La valeur de la lag phase est respectivement de 401, 205 et 169 minutes en présence des composés 4, 6 et 8.

25 **La figure 2b** représente le calcul de la vitesse de formation des diènes. La vitesse de formation des diènes conjugués par le cuivre est de 2,2 nmol/min/mg de LDL. La présence des composés 4, 6 et 8 provoque une diminution de la vitesse de la réaction d'oxydation des diènes. Elle est de 0,2 nmol/min/mg en présence du composé 4 et de 1,7 nmol/min/mg en présence du composé 6 ou du composé 8.

30 La quantité totale de diènes formés (**figure 2c**) est de 511 nmol/mg de LDL en présence de cuivre seul. En présence des composés 4, 6 et 8, cette quantité passe à 138, 443 et 474 nmol/mg.

Le retard de formation de diènes conjugués, la diminution de la vitesse de formation des diènes et la diminution de la quantité totale de diènes formés sont trois paramètres qui attestent du caractère antioxydant des produits.

- 5 **Figures 3a et 3b** : Evaluation des propriétés d'agoniste PPAR α et PPAR γ des composés selon l'invention avec le système de transactivation PPAR α /Gal4 et PPAR γ /Gal4 dans les cellules RK13.

10 Les cellules RK13 sont incubées avec du composé 2 à des concentrations comprises entre 0,01 et 10 μ M pendant 24h. Les résultats sont représentés par le facteur d'induction (Rapport entre le signal luminescent obtenu avec le composé et le signal luminescent obtenu sans composé) en fonction des différents traitements. Plus le facteur d'induction est élevé meilleure est la propriété d'agoniste pour PPAR α ou PPAR γ .

15 **Figure 3a** : Les résultats présentés par la figure 3a montrent les facteurs d'induction du composé 2 avec le système de transactivation PPAR α /Gal4. Les valeurs de ces facteurs d'induction sont notées dans le tableau suivant.

Composé	Traitement	Facteur d'induction
Cpd 2	1 μ M	8,83
	10 μ M	18,49

20 Le facteur d'induction mesuré avec le composé 2 est maximal pour la dose de 10 μ M et atteint la valeur de 18,49.

Figure 3b : Les résultats présentés par la figure 3b montrent les facteurs d'induction du composé 2 avec le système de transactivation PPAR γ /Gal4. Les valeurs de ces facteurs d'induction sont notées dans le tableau suivant :

Composé	Traitement	Facteur d'induction
Cpd 2	0.01 μ M	1,31
	0.03 μ M	1,18
	0.1 μ M	1,73
	0.3 μ M	4,58

	1µM	9,50
	3µM	16,64
	10µM	31,00

Pour ce qui concerne le système PPAR γ /Gal4, le facteur d'induction varie de 1,31 à 31,00, il augmente avec la concentration en composé 2 dans le milieu.

- 5 **Figures 4a et 4b** : Evaluation des propriétés d'agoniste PPAR α et PPAR γ des composés selon l'invention avec le système de transactivation PPAR α /Gal4 et PPAR γ /Gal4 à l'aide des cellules COS-7.

Les cellules COS-7 sont incubées avec les composés 4, 6 et 8 aux concentrations de 1 et 10 µM pendant 24h. Les résultats sont représentés par le facteur d'induction (Rapport entre le signal luminescent obtenu avec le composé et le signal luminescent obtenu sans composé) en fonction des différents traitements.

10 Les résultats présentés par la figure 4a montrent les facteurs d'induction des composé 4, composé 6 et composé 8 avec le système de transactivation PPAR α /Gal4. Les valeurs de ces facteurs d'induction sont notées dans le tableau suivant :

Composé	Traitement	Facteur d'induction
Cpd 4	1µM	1,67
	10µM	9,92
Cpd 6	1µM	5,48
	10µM	7,01
Cpd 8	1µM	15,67
	10µM	12,66

Le facteur d'induction maximal mesuré pour le composé 4 est de 9,92 à 10µM. Cette valeur est de 7,01 pour le composé 6 (10µM) et de 15,67 avec le composé 8 (1µM).

Les résultats présentés par la figure 4b montrent les facteurs d'induction des composé 4, composé 6 et composé 8 avec le système de transactivation PPAR γ /Gal4. Les valeurs de ces facteurs d'induction sont notées dans le tableau suivant :

5

Composé	Traitement	Facteur d'induction
Cpd 4	1 μ M	2,00
	10 μ M	5,82
Cpd 6	1 μ M	4,12
	10 μ M	6,83
Cpd 8	1 μ M	2,13
	10 μ M	2,74

Le composé 4 a un facteur d'induction maximal de 5,82, il est observé pour une concentration de 10 μ M.

La valeur maximal du facteur d'induction observée avec le composé 6 est de 6,83 (10 μ M) avec le composé 6 et 2,74 avec le composé 8 (10 μ M).

10

Les résultats illustrés par les figures montrent que les composés selon l'invention testés possèdent la propriété de ligand vis-à-vis de PPAR α et PPAR γ et permettent aussi son activation au niveau transcriptionnel.

15

Sur les figures 5a, 5b, 5c et 5d sont représentés les effets du traitement avec le composé 2 sur le métabolisme des triglycérides et du cholestérol chez les souris transgéniques Apo E2/E2. Les animaux ont été traités par gavage avec 50mg de composé 2 par kg et par jour, pendant 7 jours.

Les figures 5a et 5b montrent la diminution des taux plasmatiques de triglycérides et de cholestérol induite par le composé.

20

Les figures 5c et 5d montrent la distribution des triglycérides et du cholestérol dans les lipoparticules évaluée par chromatographie d'exclusion. On observe une distribution typique des triglycérides et du cholestérol principalement localisée dans les lipoparticules de grande taille. On observe également une diminution des

25

triglycérides et du cholestérol dans cette classe de lipoparticules induite par le traitement avec le composé 2.

5 D'autres aspects et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

EXEMPLES

10 Exemple 1 : Synthèse des composés selon l'invention

Les composés de l'invention sont préparés selon les méthodes générales décrites ci-dessous.

15 Description des méthodes générales de synthèse selon l'invention :

Synthèse de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-ones :

Méthode générale 1 :

Synthèse de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-ones en milieu acide :

20 La cétone (1 éq) et l'aldéhyde (1 éq) sont solubilisés dans une solution d'éthanol saturée d'acide chlorhydrique gazeux. L'ensemble est agité à température ambiante pendant 6 heures puis le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one est purifiée par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

25

Méthode générale 2 :

Synthèse de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-ones en présence d'hydroxyde de sodium :

30 La cétone (1 éq) et l'aldéhyde (1 éq) sont solubilisés dans une solution hydroalcoolique d'hydroxyde de sodium (20 éq). L'ensemble est agité 18 heures à température ambiante. Le milieu est acidifié (pH = 2) avec de l'acide chlorhydrique.

La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one est obtenue par précipitation ou extraction solide liquide après évaporation du milieu réactionnel. Elle est purifiée par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

5 Méthode générale 3 :

Synthèse de 1,3-diphénylprop-2-en-1-ones substituées en présence d'éthylate de sodium :

10 Le sodium (1 éq) est dissout dans l'éthanol absolu. La cétone (1 éq) et l'aldéhyde (1 éq) sont ajoutés. L'ensemble est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 12 heures puis une solution de soude 2N (5 éq) est ajoutée. L'ensemble est maintenu à 100°C pendant 12 heures. Le milieu réactionnel est acidifié par addition d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 6N. Le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

15

O-Alkylation de phénols ou du thiophénols :

Méthode générale 4 :

20 Le phénol (1 éq) ou le thiophénol (1 éq) est solubilisé dans l'acétonitrile, le dérivé halogéné (1 à 10 éq), et le carbonate de potassium (5 éq) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est maintenu environ 10 heures sous vive agitation à reflux. Les sels sont éliminés par filtration, le solvant et l'excès de réactif sont éliminés par évaporation sous pression réduite, le produit attendu est purifié par chromatographie sur gel de silice.

25 Méthode générale 5 :

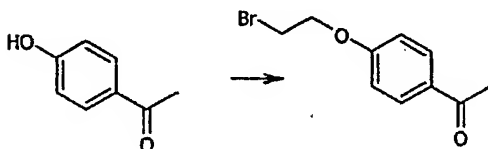
L'alcool (1 éq), le phénol (1 éq) et la triphénylphosphine sont solubilisés dans du dichlorométhane. Le diisopropylazodicarboxylate (1 éq) est ajouté, l'ensemble est laissé 12 heures, sous agitation à température ambiante.

30 Le milieu réactionnel est lavé avec de l'eau, séché sur sulfate de magnésium et évaporé sous pression réduite. Le résidu d'évaporation est purifié par chromatographie sur gel de silice

Acidolyse d'esters tertiobutyliques :

Méthode générale 6 :

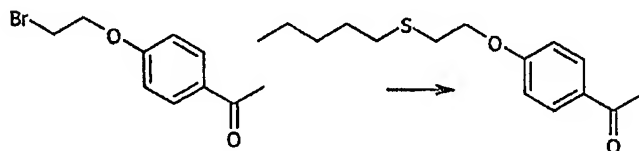
L'ester tertiobutylique (1 éq) est solubilisé dans du dichlorométhane, l'acide trifluoroacétique (10 éq) est additionné, l'ensemble est maintenu 12 heures sous agitation à température ambiante. Le produit formé est purifié par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

Synthèse des matières premières servant à la synthèse des composés selon l'invention :**Matière première 1 :****4'-(Bromoéthoxy)acétophénone :**

Ce composé est synthétisé à partir de 4'-hydroxyacétophénone et de dibromoéthane selon la méthode générale 4 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 9-1).

RMN 1H CDCl₃ δppm : 2.55(s, 3H), 3.66(t, 2H, J = 6.5Hz), 4.35(t, 2H, J = 6.5Hz), 6.94(d, 2H, J = 7.23Hz), 7.94(d, 2H, J = 7.23Hz)

Matière première 2 :**4'-(Pentylthioéthoxy)acétophénone :**

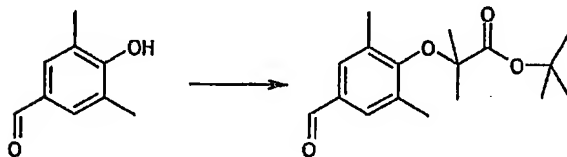
La matière première 1 (1éq) et le pentanethiol (1éq) sont solubilisés dans du méthanol en présence de triéthylamine (2 éq). Le milieu réactionnel est maintenu 18 heures à reflux, le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. L'huile est reprise par de l'acétate d'éthyle, lavée par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 2N. La 4'-(pentylthioéthoxy)acétophénone est

obtenue après purification sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 9-1).

RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 0.85 (m, 3H), 1.24-1.39(m, 4H), 1.52-1.62 (m, 2H), 2.50(s, 3H), 2.64(t, 2H, $J = 7.2\text{Hz}$) , 2.94(t, 2H, $J = 6.8\text{Hz}$), 4.14(t, 2H, $J = 6.8\text{Hz}$), 6.88(d, 2H, $J = 8.7\text{ Hz}$), 7.89(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$).

Matière première 3 :

3,5-Diméthyl-4-tertiobutyloxycarbonyldiméthylméthyloxybenzaldéhyde :



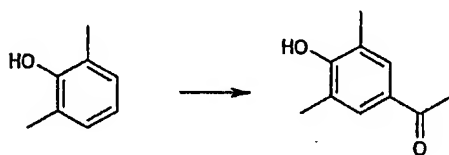
Ce composé est synthétisé à partir de 4-hydroxy-3,5-diméthylbenzaldéhyde et de bromoisobutyrate de tertibutyle selon la méthode générale 4.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 8-2).

RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 1.43(s, 6H), 1.49(s, 9H), 2.28(s, 6H), 7.53(s, 2H), 9.88(s, 1H).

Matière première 4 :

4'-Hydroxy-3,5-diméthylbenzaldéhyde :



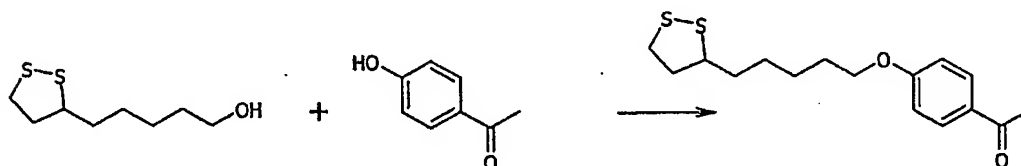
Le 2,6-diméthylphénol (1éq) est solubilisé dans du chlorure de méthylène, la solution est refroidie à 0°C puis sont ajoutés le chlorure d'aluminium (3éq) et le bromure d'acétyle (2éq). L'ensemble est agité 3 heures à température ambiante, puis versé sur de la glace. La phase aqueuse est extraite par du dichlorométhane, la phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité, séchée sur sulfate de magnésium puis le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. L'ester intermédiaire obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle : 9-1) puis repris par une solution aqueuse de soude 2N (2.5éq). L'ensemble est agité 48 heures à température ambiante puis

acidifié par une solution d'acide chlorhydrique diluée. Le précipité est lavé avec de l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage.

RMN ^1H CDCl_3 δppm : 2.3(s, 6H), 2.54(s, 3H), 7.65(s, 2H).

5 Matière première 5 :

4'-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentoxy)acétophénone :



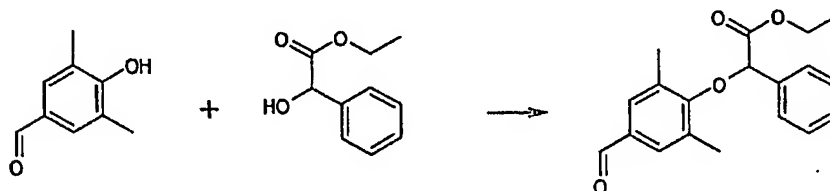
10 Ce composé est synthétisé à partir de 4'-hydroxyacétophénone et de (R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentanol selon la méthode générale 5 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 95-5).

15 RMN ^1H CDCl_3 δppm : 1.42-1.62(m, 4H), 1.62-1.75(m, 2H), 1.75-1.89(m, 2H), 1.89-1.98(m, 1H), 2.42-2.51(m, 1H), 2.56(s, 3H), 3.08-3.21(m, 2H), 3.55-3.61(m, 1H), 4.06(t, 2H, $J = 6.2\text{Hz}$), 6.92(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$), 7.93(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$)

Matière première 6 :

(R,S)-2-phényl-2-(4-formyl-1,6-diméthylphényloxy) acétate d'éthyle:



20

Ce composé est synthétisé à partir de 4-hydroxy-3,5-diméthylbenzaldéhyde et de 2-hydroxy-2-phényl acétate d'éthyle selon la méthode générale 5 précédemment décrite.

25 Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 9-1).

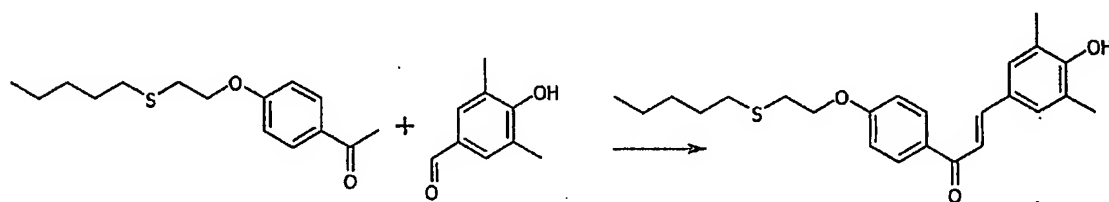
RMN ^1H CDCl_3 δppm : 1.22(t, 3H, $J = 7.35\text{Hz}$), 2.20(s, 6H), 4.16-4.28(m, 2H), 5.3(s, 1H), 7.38-7.51(m, 7H), 9.87(s, 1H)

5

Synthèse de composés intermédiaires servant à la synthèse des composés selon l'invention :

Composé intermédiaire 1 :

10 1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)prop-2-èn-1-one



15

Ce composé est synthétisé à partir de la matière première 2 et de 4-hydroxy-3,5-diméthylbenzaldéhyde selon la méthode générale 1 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 85-15).

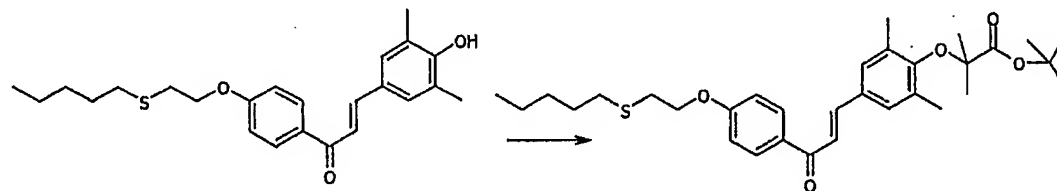
20 RMN ^1H CDCl_3 δppm : 0.91 (m, 3H), 1.33-1.42(m, 4H), 1.59-1.67 (m, 2H), 2.29(s, 6H), 2.64(t, 2H, $J = 7.6\text{Hz}$) , 2.96(t, 2H, $J = 6.8\text{Hz}$), 4.24(t, 2H, $J = 6.8\text{Hz}$), 6.97(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$), 7.31(s, 2H), 7.37(d, 1H, $J = 15.54\text{Hz}$), 7.72(d, 1H, $J = 15.54\text{Hz}$), 8.03(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$).

Composé intermédiaire 2 :

25 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-yl)pentoxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

Composé 1 selon l'invention :

1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-tertibutyloxycarbonyldiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)prop-2-èn-1-one



5

Ce composé est synthétisé à partir du composé intermédiaire 1 et de bromoisobutyrate de tertibutyle selon la méthode générale 4 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 9-1).

10

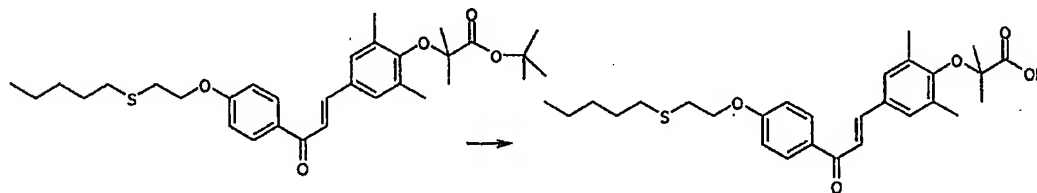
RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 0.91(t, 3H, $J = 7.1\text{Hz}$), 1.37-1.69(m, 21H), 2.27(s, 6H), 2.63(t, 2H, $J = 7.1\text{Hz}$), 2.93(t, 2H, $J = 7.1\text{Hz}$), 4.21(t, 2H, $J = 7.1\text{Hz}$), 6.97(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$), 7.28(s, 2H), 7.44(d, 1H, $J = 15.8\text{Hz}$), 7.70(d, 1H, $J = 15.8\text{Hz}$), 8.03(d, 2H, $J = 8.7\text{Hz}$)

15

Composé 2 selon l'invention :

1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)prop-2-èn-1-one

20



Ce composé est synthétisé à partir du composé 1 selon la méthode générale 6 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : dichlorométhane-méthanol : 98-2).

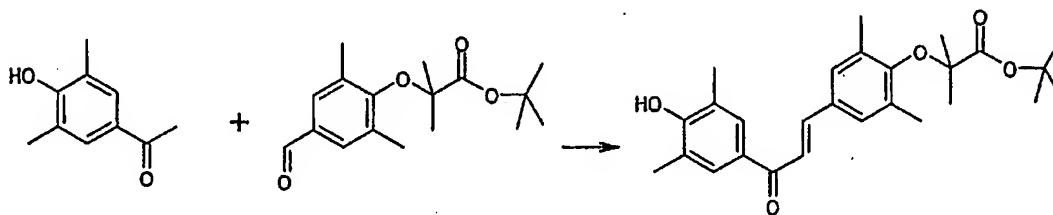
25

RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 0.84-0.89 (m, 3H), 1.39-1.24 (m, 4H), 1.39(s, 6H), 1.50-1.57 (m, 2H), 2.22(s, 6H), 2.61 (t, 2H, $J = 7.4\text{Hz}$), 2.90(t, 2H, $J = 6.2\text{Hz}$), 4.26(t,

2H, $J = 6.2\text{Hz}$), 7.09(d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$), 7.57(s, 2H), 7.59(d, 1H, $J = 15.4\text{Hz}$), 7.83(d, 1H, $J = 15.4\text{Hz}$), 8.15(d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$), 12.90(s, 1H)
 SM(ES-MS): 483.2(m-1)

5 Composé 3 selon l'invention :

1-(4-Hydroxy-3,5-diméthylphényl)-3-(4-tertobutyloxycarbonyldiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-ène-1-one :



10 Ce composé est synthétisé à partir de la matière première 3 et de la matière première 4 selon la méthode générale 1 précédemment décrite.

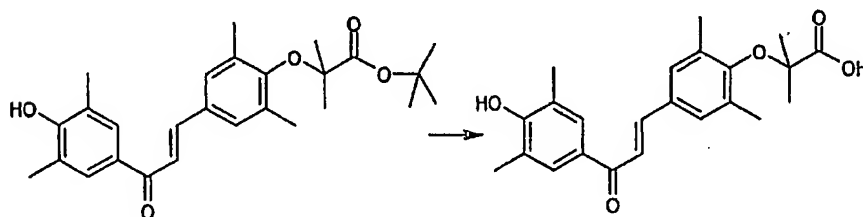
Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : dichlorométhane-méthanol : 95-5).

RMN ^1H CDCl_3 δppm : 1.46(s, 6H), 1.53(s, 9H), 2.27(s, 6H), 2.33(s, 6H), 7.28(s, 2H), 7.43(d, 1H, $J = 15.8\text{Hz}$), 7.69(d, 1H, $J = 15.8\text{Hz}$), 7.74(s, 2H)

15

Composé 4 selon l'invention :

1-(4-Hydroxy-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-ène-1-one :



20

Ce composé est synthétisé à partir du composé 3 selon la méthode générale 6 précédemment décrite.

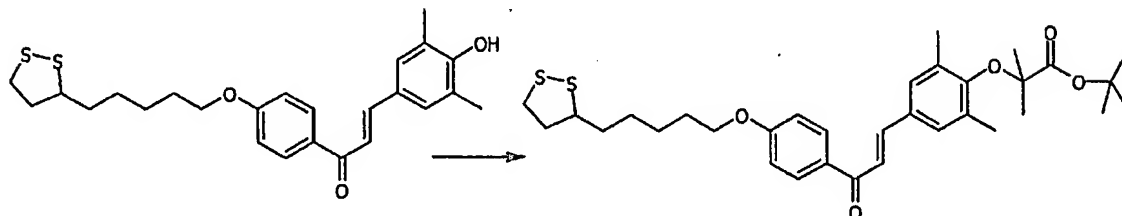
Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : dichlorométhane-méthanol : 98-2).

25 RMN ^1H CDCl_3 δppm : 1.39(s, 6H), 2.22(s, 6H), 2.25(s, 6H), 7.33(s, 2H), 7.45(d, 1H, $J = 15.5\text{Hz}$), 7.69(d, 1H, $J = 15.5\text{Hz}$), 7.75(s, 2H)

SM(ES-MS) : 381(m-1)

Composé 5 selon l'invention :

- 5 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentyl)oxy)phényl)-3-(4-tertiobutyloxycarbonyl diméthyl méthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :

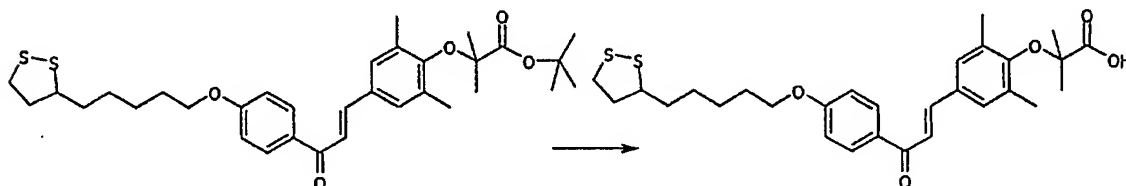


- 10 Ce composé est synthétisé à partir du composé intermédiaire 2 et de bromoisobutyrate de tertibutyle selon la méthode générale 4 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 85-15).

- 15 RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 1.43(s, 6H), 1.53(m, 13H), 1.65-1.75(m, 2H), 1.75-1.85(m, 2H), 1.85-1.97(m, 1H), 2.28(s, 6H), 1.46-1.52(m, 1H), 3.12-3.21(m, 2H), 3.58-3.63(m, 1H), 4.05(t, 2H, $J = 6.21\text{Hz}$), 6.97(d, 2H, $J = 8.3\text{Hz}$), 7.29(s, 2H), 7.45(d, 1H, $J = 15.5\text{Hz}$), 7.70(d, 1H, $J = 15.5\text{Hz}$), 8.03(d, 2H, $J = 8.3\text{Hz}$).

- 20 Composé 6 selon l'invention : 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentyl)oxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one :



25

Ce composé est synthétisé à partir du composé 5 selon la méthode générale 6 précédemment décrite.

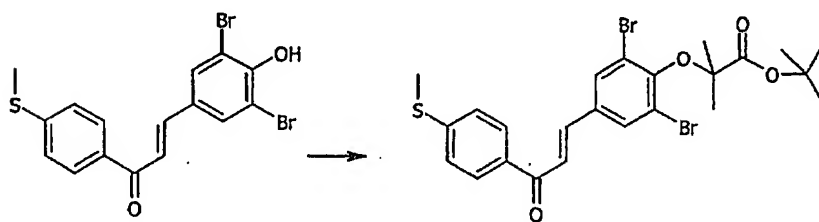
Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : dichlorométhane-méthanol : 98-2).

RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 1.56(m, 10H), 1.67-1.77(m, 2H), 1.77-1.90(m, 2H), 1.90-1.97(m, 1H), 2.30(s, 6H), 2.43-2.52(m, 1H), 3.11-3.22(m, 2H), 3.58-3.63(m, 1H),
 5 4.05(t, 2H, $J = 6.2\text{Hz}$), 6.98(d, 2H, $J = 8.8\text{Hz}$), 7.31(s, 2H), 7.46(d, 1H, $J = 15.8\text{Hz}$),
 7.71(d, 1H, $J = 15.8\text{Hz}$), 8.03(d, 2H, $J = 8.8\text{Hz}$).

SM(ES-MS) : 529.1(M+1)

Composé 7 selon l'invention :

10 1-(4-Méthylthiophényl)-3-(4-tertiobutyloxycarbonyldiméthylméthyloxy-3,5-dibromophényl)-prop-2-ène-1-one :



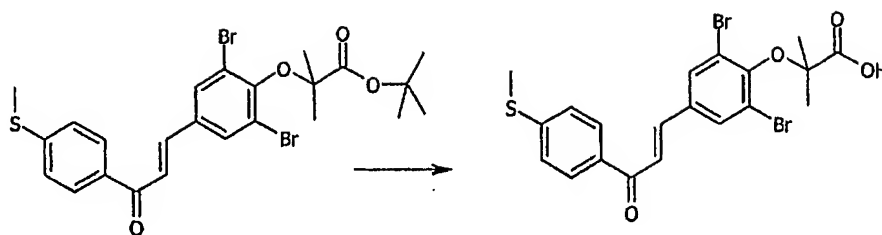
15 Ce composé est synthétisé à partir du composé intermédiaire 3 et de bromoisobutyrate de tertibutyle selon la méthode générale 4 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 9-1).

20 RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 1.54(s, 9H), 1.63(s, 6H), 2.56(s, 3H), 7.33(d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$), 7.44(d, 1H, $J = 15.7\text{Hz}$), 7.62(d, 1H, $J = 15.7\text{Hz}$), 7.78(s, 2H), 7.96(d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$)

Composé 8 selon l'invention :

25 1-(4-Méthylthiophényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-dibromophényl)-prop-2-ène-1-one :



Ce composé est synthétisé à partir du composé 7 selon la méthode générale 6 précédemment décrite.

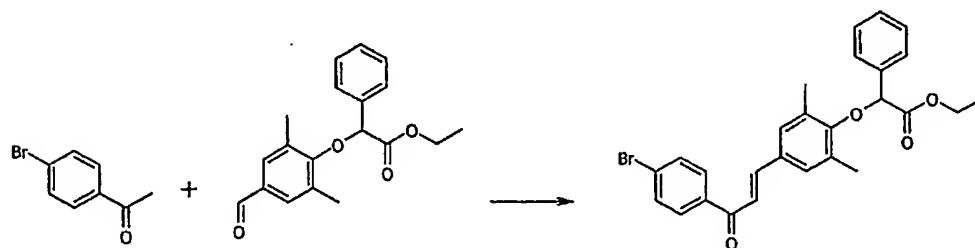
Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : dichlorométhane-méthanol : 98-2).

RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 1.54(s, 6H), 2.51(s, 3H), 7.41(d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$), 7.64(d, 1H, $J = 15.4\text{Hz}$), 8.04(d, 1H, $J = 15.4\text{Hz}$), 8.15(d, 2H, $J = 8.5\text{Hz}$), 8.29(s, 2H), 12.93(s, 1H)

SM(ES-MS): 513.2(m-1)

Composé 9 selon l'invention :

1-(4-Bromophényl)-3-(3,5-diméthyl-4-éthoxyxycarbonylphénylméthoxyphényl)-prop-2-èn-1-one :



Ce composé est synthétisé à partir de 4'-bromoacétophénone et de la matière première 6 selon la méthode générale 1 précédemment décrite.

Purification par chromatographie sur gel de silice (élution : cyclohexane-acétate d'éthyle : 8-2).

RMN ^1H CDCl_3 δ ppm : 1.23(t, 3H, $J = 7.08\text{Hz}$), 2.16(s, 6H), 4.2(m, 2H), 5.27(s, 1H), 7.28(s, 2H), 7.31-7.52 (m, 6H), 7.64(d, 2H, $J = 8.70\text{Hz}$), 7.71(d, 1H, $J = 15.8\text{Hz}$), 7.9(d, 2H, $J = 8.70\text{Hz}$)

Exemple 2 : Evaluation des propriétés antioxydantes des composés selon l'invention

Protection de l'oxydation des LDL induite par le cuivre :

Les composés testés sont les composés selon l'invention dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

5 L'oxydation des LDL est une modification importante et joue un rôle prépondérant dans la mise en place et le développement de l'athérosclérose (Jurgens, Hoff *et al.* 1987). Le protocole suivant permet la mise en évidence des propriétés antioxydantes des composés. Sauf mention différente, les réactifs proviennent de chez Sigma (St Quentin, France).

10 Les LDL sont préparés suivant la méthode décrite par Lebeau *et al.* (Lebeau, Furman *et al.* 2000).

Les solutions de composés à tester sont préparées à 10^{-2} M dans un tampon bicarbonate (pH = 9) et diluées dans du PBS pour avoir des concentrations finales allant de 0,1 à 100 μ M.

15 Avant l'oxydation, l'EDTA est retiré de la préparation de LDL par dialyse. L'oxydation a ensuite lieu à 30°C en ajoutant 100 μ l d'une solution à 16,6 μ M de CuSO_4 à 160 μ L de LDL (125 μ g de protéines/ml) et 20 μ l d'une solution du composé à tester. La formation de diènes, l'espèce à observer, se mesure par densité optique à 232 nm dans les échantillons traités avec les composés avec ou
20 sans cuivre. La mesure de la densité optique à 232 nm est réalisée toutes les 10 minutes pendant 8 heures à l'aide d'un spectrophotomètre thermostaté (tecan Ultra 380). Les analyses sont réalisées en triplicata. Nous considérons que les composés ont une activité antioxydante lorsqu'ils induisent un retardement de la *lag phase*, diminuent la vitesse d'oxydation et la quantité de diènes formés par
25 rapport à l'échantillon témoin. Les inventeurs mettent en évidence que les composés selon l'invention présentent au moins une des propriétés antioxydantes citées ci dessus, ceci indiquant que les composés selon l'invention possèdent un caractère antioxydant intrinsèque.

30 Des exemples de résultats sont donnés sur les figures 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c où les propriétés antioxydantes des composés selon l'invention sont illustrées.

Exemple 3 : mesure des propriétés antioxydantes des composés selon l'invention sur des culture de cellules

Protocole de culture :

Les lignées cellulaires utilisées pour ce type d'expériences sont de type neuronales, neuroblastomes (humains) et cellules PC12 (rat). Les cellules PC12 ont été préparées à partir d'un phéochromocytome de rat et sont caractérisées par la méthode de Greene et Tischler (Greene and Tischler, 1976). Ces cellules sont couramment utilisées pour des études de différenciation neuronale, transduction du signal et mort neuronale. Les cellules PC12 sont cultivées comme précédemment décrit (Farinelli, Park *et al.* 1996), dans du milieu complet RPMI (Invitrogen) complémenté avec 10% de sérum de cheval et 5% de sérum de veau foetal.

Des cultures (primaires) de cellules endothéliales et de muscles lisses sont également utilisées. Les cellules sont commandées chez Promocell (Promocell GmBH, Heidelberg) et sont cultivées selon les indications du fournisseur.

Les cellules sont traitées avec différentes doses de composés de 5 à 300 μ M pendant 24 heures. Les cellules sont alors récupérées et l'augmentation de l'expression des gènes cibles est évaluée par PCR quantitative.

Mesure des ARNm :

Les ARNm sont extraits des cellules en culture traitées ou non avec les composés selon l'invention. L'extraction est réalisée à l'aide des réactifs du kit Absolutely RNA RT-PCR miniprep Kit (Stratagene, France) selon les indications du fournisseur. Les ARNm sont ensuite dosés par spectrométrie et quantifiés par RT-PCR quantitative à l'aide du kit Light Cycler Fast start DNA Master Sybr Green I kit (Roche) sur un appareil Light Cycler System (Roche, France). Des paires d'amorces spécifiques des gènes de la Super Oxyde Dismutase (SOD), de la Catalase et de la Glutathion Peroxydase (GPx), enzymes anti-oxydantes, sont utilisées comme sondes. Des paires d'amorces spécifiques des gènes β -actine et cyclophiline sont utilisées comme sondes témoin.

L'augmentation de l'expression des ARNm, mesurée par RT-PCR quantitative, des gènes des enzymes antioxydantes est mise en évidence dans les différents types cellulaires utilisés, lorsque les cellules sont traitées avec les composés selon l'invention.

Contrôle du stress Oxydatif :Mesure des espèces oxydantes dans les cellules en culture :

Les propriétés antioxydantes des composés sont également évaluées à l'aide d'un indicateur fluorescent dont l'oxydation est suivie par l'apparition d'un signal fluorescent. La diminution d'intensité du signal fluorescent émis est mesurée dans les cellules traitées avec les composés de la manière suivante : les cellules PC12 cultivées comme précédemment décrit (plaques noires 96 puits fonds transparents, Falcon) sont incubées avec des doses croissantes de H_2O_2 (0,25 mM – 1 mM) dans du milieu sans sérum pendant 2 à 24 heures. Après l'incubation le milieu est enlevé et les cellules sont incubées avec une solution de dichlorodihydrofluorescéine diacetate (DCFDA, Molecular Probes, Eugene, USA) 10 μ M dans du PBS pendant 30 min à 37°C et dans une atmosphère contenant 5% de CO_2 . Les cellules sont ensuite rincées avec du PBS. La détection de la fluorescence émise par l'indicateur de l'oxydation est mesurée à l'aide d'un fluorimètre (Tecan Ultra 384) à une longueur d'onde d'excitation de 495 nm et une longueur d'onde d'émission de 535 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage de protection par rapport au témoin oxydé.

L'intensité de fluorescence est plus faible dans les cellules incubées avec les composés selon l'invention que dans les cellules non traitées. Ces résultats indiquent que les composés selon l'invention favorisent l'inhibition de la production d'espèces oxydantes dans des cellules soumises à un stress oxydatif. Les propriétés antioxydantes décrites précédemment sont également efficaces pour induire une protection antiradicalaire dans des cellules en culture.

Mesure de la peroxydation lipidique :

L'effet protecteur des composés sur la peroxydation lipidique sur des cultures de cellules (modèles cellulaires cités précédemment) est déterminé de la façon suivante : les différentes lignées cellulaires ainsi que les cellules en culture primaire sont traitées comme précédemment, le surnageant des cellules est récupéré après le traitement et les cellules sont lysées et récupérées pour la détermination de la concentration protéique. La détection de la peroxydation lipidique est déterminée de la manière suivante :

La peroxydation lipidique est mesurée à l'aide d'acide thiobarbiturique (TBA) qui réagit avec la lipoperoxydation des aldéhydes tel que le malondialdéhyde (MDA). Après les traitements, le surnageant des cellules est collecté (900 µl) et 90 µl d'hydroxytoluène butylé y sont ajoutés (Morliere, Moysan et al. 1991). Un ml d'une solution de TBA à 0,375% dans 0,25M HCL contenant 15% d'acide trichloroacétique est également ajouté aux milieux réactionnels. Le mélange est chauffé à 80°C pendant 15 min, refroidi sur glace et la phase organique est extraite avec du butanol. L'analyse de la phase organique se fait par spectrofluorométrie ($\lambda_{exc}=515$ nm et $\lambda_{em}=550$ nm) à l'aide du spectrofluorimètre Shimazu 1501 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon). Les TBARS sont exprimés en équivalents MDA en utilisant un standard le tetra-ethoxypropane. Les résultats sont normalisés par rapport au contenu en protéines.

La diminution de la peroxydation lipidique observée dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention confirme les résultats obtenus précédemment.

Les composés selon l'invention présentent avantageusement des propriétés antioxydantes intrinsèques qui permettent de ralentir et/ou d'inhiber les effets d'un stress oxydatif. Les inventeurs montrent également que les composés selon l'invention sont capables d'induire l'expression des gènes d'enzymes antioxydants. Ces caractéristiques particulières des composés selon l'invention permettent aux cellules de lutter plus efficacement contre le stress oxydatif et donc d'être protégées vis à vis des dommages induits par les radicaux libres.

Exemple 4 : Evaluation de l'activation des PPARs *in vitro* par les composés selon l'invention

Les composés selon l'invention testés sont les composés possédant une fonction acide carboxylique et dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

Les récepteurs nucléaires membres de la sous-famille des PPARs qui sont activés par deux classes majeures de composés pharmaceutiques, les fibrates et les glitazones, abondamment utilisées en clinique humaine pour le traitement des dyslipidémies et du diabète, jouent un rôle important dans l'homéostasie lipidique

et glucidique. Les données expérimentales suivantes montrent que les composés selon l'invention activent PPAR α et PPAR γ *in vitro*.

L'activation des PPARs est évaluée *in vitro* dans des lignées de type épithélioïde RK13 ou COS-7 par la mesure de l'activité transcriptionnelle de chimères constituées du domaine de liaison à l'ADN du facteur de transcription Gal4 de levure et du domaine de liaison du ligand des différents PPARs. Ces derniers résultats sont ensuite confirmés dans des lignées cellulaires selon les protocoles suivants :

L'exemple est donné pour les cellules RK13 et les cellules COS-7.

Protocoles de culture

Les cellules RK13 proviennent de l' ECACC (Porton Down, UK), les cellules COS-7 proviennent de ATCC et sont cultivées dans du milieu DMEM supplémenté de 10% vol/vol sérum de veau fœtal, 100 U/ml pénicilline (Gibco, Paisley, UK) et 2 mM L-Glutamine (Gibco, Paisley, UK). Le milieu de culture est changé tous les deux jours. Les cellules sont conservées à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5% de CO₂ et 95% d'air.

Description des plasmides utilisés en transfection

Les plasmides pG5TkpGL3, pRL-CMV, pGal4-hPPAR α , pGal4-hPPAR γ et pGal4- ϕ ont été décrits par Raspe, Madsen et al. (1999). Les constructions pGal4-mPPAR α et pGal4-hPPAR γ ont été obtenues par clonage dans le vecteur pGal4- ϕ de fragments d'ADN amplifiés par PCR correspondants aux domaines DEF des récepteurs nucléaires PPAR α et PPAR γ humains.

Transfection

Les cellules RK13 sontensemencées dans des boîtes de culture de 24 puits à raison de 5x10⁴ cellules/puits, les cellules COS-7 dans des plaques de 96 puits à raison de 5x10⁴ cellules/puits et sont transfectées pendant 2 heures avec le plasmide rapporteur pG5TkpGL3 (50 ng/puits), les vecteurs d'expression pGal4- ϕ , pGal4-mPPAR α , pGal4-hPPAR α , pGal4-hPPAR γ (100 ng/puits) et le vecteur de contrôle de l'efficacité de transfection pRL-CMV (1 ng/puits) suivant le protocole

décrit précédemment (Raspe, Madsen et al. 1999) et incubées pendant 36 heures avec les composés testés. A l'issue de l'expérience, les cellules sont lysées (Gibco, Paisley, UK) et les activités luciférase sont déterminées à l'aide du kit de dosage Dual-LuciferaseTM Reporter Assay System (Promega, Madison, WI, USA) pour les cellules RK13 et Steady Glow Luciferase (Promega) pour les COS-7 selon la notice du fournisseur comme décrit précédemment. Le contenu en protéines des extraits cellulaires est ensuite évalué à l'aide du kit de dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

10 Les inventeurs mettent en évidence une augmentation de l'activité luciférase dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention et transfectées avec le plasmide pGal4-hPPAR α . Cette induction de l'activité luciférase indique que les composés selon l'invention, sont des activateurs de PPAR α . Un exemple de résultats est donné sur les figures 3a et 4a où les propriétés activatrices PPAR α des composés selon l'invention sont illustrées.

15 Les inventeurs mettent en évidence une augmentation de l'activité luciférase dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention et transfectées avec le plasmide pGal4-hPPAR γ . Cette induction de l'activité luciférase indique que les composés selon l'invention, sont des activateurs de PPAR γ .

20 Des exemples de résultats sont représentés par la figure 3b et 4b où les propriétés activatrices PPAR γ des composés sont illustrées.

Exemple 5 : évaluation des propriétés anti-inflammatoires des composés selon l'invention

25 La réponse inflammatoire apparaît dans de nombreux désordres neurologiques, comme les scléroses multiples, les maladie d'Alzheimer et de Parkinson, les ischémies cérébrales et les accidents traumatiques du cerveau. De plus l'inflammation est l'un des facteurs importants de la neurodégénérescence. Lors
30 d'accidents cérébraux, une des premières réactions des cellules de la glie est de libérer des cytokines et des radicaux libres. La conséquence de cette libération de cytokines et de radicaux libres est une réponse inflammatoire au niveau cérébral qui peut mener à la mort des neurones (Rothwell 1997).

Les lignées cellulaires et les cellules primaires sont cultivées comme décrit précédemment.

Le LPS (LipoPolySaccharide), endotoxine bactérienne (*Escherichia coli* 0111 :B4) (Sigma, France), est reconstitué dans de l'eau distillée et conservée à 4°C. les cellules sont traitées avec une concentration de LPS de 1 µg/ml pendant 24 heures. Pour éviter toutes interférences avec d'autres facteurs le milieu de culture des cellules est totalement changé.

Le TNF-α est un facteur important de la réponse inflammatoire à un stress (oxydant par exemple). Pour évaluer la sécrétion de TNF-α en réponse à une stimulation par des doses croissantes de LPS, le milieu de culture des cellules stimulées est prélevé et la quantité de TNF-α est évaluée avec un kit ELISA-TNF-α (Immunotech, France). Les échantillons sont dilués 50 fois afin d'être en adéquation avec la gamme étalon (Chang, Hudson *et al.* 2000).

La propriété anti-inflammatoire des composés est caractérisée de la manière suivante : le milieu de culture des cellules est totalement changé et les cellules sont incubées avec les composés à tester pendant 2 heures. Après cette incubation, du LPS est rajouté au milieu de culture à une concentration finale de 1 µg/ml. Après 24 heures d'incubation, le surnageant de cellules est récupéré et stocké à -80°C lorsqu'il n'est pas traité directement. Les cellules sont lysées et la quantité de protéines est quantifiée, à l'aide du kit de dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

La mesure de la diminution de sécrétion de TNF-α favorisée par le traitement avec les composés testés est exprimée en pg/ml/µg de protéine et rapporté en pourcentage par rapport au témoin. Ces résultats montrent que les composés selon l'invention possèdent des propriétés anti-inflammatoires.

Exemple 6 : Evaluation des effets sur le métabolisme lipidique *in vivo*

Les composés selon l'invention testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

Les fibrates, abondamment utilisés en clinique humaine pour le traitement des dyslipidémies impliquées dans le développement de l'athérosclérose, une des principales causes de mortalité et de morbidité dans les sociétés occidentales,

sont de puissants activateurs du récepteur nucléaire PPAR α . Celui-ci régule l'expression de gènes impliqués dans le transport (apolipoprotéines telles que Apo AI, Apo AII et Apo CIII, transporteurs membranaires tel que FAT) ou le catabolisme des lipides (ACO, CPT-I ou CPT-II). Un traitement par les activateurs de PPAR α se traduit donc, chez l'homme et le rongeur, par une diminution des taux circulants de cholestérol et de triglycérides.

Les protocoles suivants permettent de mettre en évidence une baisse du taux de triglycérides et du taux de cholestérol circulant, ainsi que l'intérêt des composés selon l'invention dans le cadre de la prévention et/ou du traitement des maladies cardio-vasculaires.

a) Traitement des animaux

Des souris transgéniques Apo E2/E2 sont maintenues sous un cycle lumière/obscurité de 12/12 heures à une température constante de $20 \pm 3^\circ\text{C}$. Après une acclimatation d'une semaine, les souris sont pesées et rassemblées par groupes de 6 animaux sélectionnés de telle sorte que la distribution de leur poids corporel soit uniforme. Les composés testés sont suspendus dans la carboxyméthylcellulose et administrés par gavage intra-gastrique, à raison d'une fois par jour pendant 7, aux doses indiquées. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture. A l'issue de l'expérience les animaux sont pesés et sacrifiés sous anesthésie. Le sang est collecté sur EDTA. Le plasma est préparé par centrifugation à 3000 tours/minutes pendant 20 minutes. Des échantillons de foie sont prélevés et conservés congelés dans de l'azote liquide pour analyse ultérieure.

Mesure des lipides et apolipoprotéines sériques

Les concentrations sériques des lipides (cholestérol total et cholestérol libre, triglycérides et phospholipides) sont mesurées par dosage colorimétrique (Boehringer, Mannheim, Allemagne) selon les indications du fournisseur. Les concentrations sériques des apolipoprotéines AI, AII et CIII sont mesurées selon les méthodes décrites précédemment (Raspé et al. 1999, Asset G et al., Lipids, 1999).

Un exemple de résultats est donné sur les figures 5a, 5b, 5c et 5d où l'activité du composé 2 sur le métabolisme des triglycérides et du cholestérol est illustrée.

5 **b) Analyse des ARNs**

L'ARN total a été isolé des fragments de foie par extraction à l'aide du mélange thiocyanate de guanidine/phénol acide/chloroforme suivant le protocole décrit précédemment (Raspé *et al.* 1999). Les ARN messagers ont été quantifiés par RT-PCR quantitative à l'aide du kit Light Cycler Fast Start DNA Master Sybr Green I kit (Hoffman-La Roche, Basel, Suisse) sur un appareil Light Cycler System (Hoffman-La Roche, Basel, Suisse). Des paires d'amorces spécifiques des gènes ACO, Apo CIII et Apo AII ont été utilisées comme sondes. Des paires d'amorces spécifiques des gènes 36B4, β -actine et cyclophiline ont été utilisées comme sondes témoin. Alternativement, l'ARN total a été analysé par Northern Blot ou

10

15 Dot Blot suivant le protocole décrit précédemment (Raspé *et al.*, 1999).

Exemple 7 : Evaluation des effets neuro-protecteurs des composés selon l'invention dans un modèle d'ischémie-reperfusion cérébral

20 **Modèle Prophylactique :**

1/ Traitements des animaux

1.1 Animaux et administration des composés

Des souris C57 black/6 (sauvages) sont utilisées pour cette expérience.

Les animaux sont maintenus sous un cycle lumière/obscurité de 12/12 heures à une température de 20 +/- 3°C. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la

25 nourriture. La prise de nourriture et la prise de poids sont enregistrées.

Les animaux sont traités par gavage avec les composés selon l'invention ou le véhicule (carboxycellulose 0,5%), pendant 14 jours avant l'induction de l'ischémie de l'artère moyenne cérébrale.

30

1.2 Induction d'une ischémie-reperfusion par occlusion intraluminale de l'artère moyenne cérébrale :

Les animaux sont anesthésiés à l'aide d'une injection intra-péritonéale de 300 mg/kg d'hydrate de chloral. Une sonde rectale est mise en place et la température du corps est maintenue à $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. La pression artérielle est mesurée au cours de toute l'expérience.

- 5 Sous un microscope chirurgical, la carotide droite est mise à jour à l'aide d'une incision cervicale médiale. L'artère ptérygopalatine a été ligaturée à son origine et une artériotomie est réalisée dans l'artère carotide externe afin d'y glisser un mono-filament de nylon. Ce filament est alors doucement avancé dans l'artère carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de
- 10 l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

2/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

- 15 24 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés sont tués par une overdose de pentobarbital.

Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires ont été mesurées et le volume de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés par la formule

20 suivante (Volume de l'infarctus corrigé = Volume de l'infarctus - (volume de l'hémisphère droit - volume de l'hémisphère gauche)) pour compenser l'œdème cérébral.

- L'analyse des coupes de cerveaux d'animaux traités révèle une nette diminution du volume de l'infarctus par rapport aux animaux non traités. Lorsque les
- 25 composés selon l'invention sont administrés aux animaux avant l'ischémie (effet prophylactique), ils sont capables d'induire une neuroprotection.

3/ Mesure de l'activité des enzymes anti-oxydantes :

- Les cerveaux des souris sont congelés, écrasés et réduits en poudres puis re-
- 30 suspendus dans une solution saline. Les différentes activités enzymatiques sont ensuite mesurées comme décrits par les auteurs suivants : superoxide dismutase (Flohe and Otting 1984); glutathion peroxidase (Paglia and Valentine 1967);

glutathion reductase (Spooner, Delides et al. 1981); glutathion-S-transferase (Habig and Jakoby 1981); catalase (Aebi 1984).

Les différentes activités enzymatiques mentionnées ci-dessus sont augmentées dans les préparations de cerveaux des animaux traités avec les composés selon l'invention.

Modèle curatif ou traitement de la phase alguë

1/ Induction d'une ischémie-reperfusion par occlusion intraluminale de l'artère moyenne cérébrale.

Des animaux tels que décrits précédemment sont utilisés pour cette expérience. Les animaux sont anesthésiés à l'aide d'une injection intra-péritonéale de 300 mg/kg d'hydrate de chloral. Une sonde rectale est mise en place et la température du corps est maintenue à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. La pression artérielle est mesurée au cours de toute l'expérience.

Sous un microscope chirurgical, la carotide droite est mise à jour à l'aide d'une incision cervicale médiale. L'artère ptérygopalatine a été ligaturée à son origine et une artériotomie est réalisée dans l'artère carotide externe afin d'y glisser un mono-filament de nylon. Ce filament est ensuite doucement avancé dans l'artère carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

2/ Traitement des animaux :

Les animaux ayant subi une ischémie-reperfusion préalable sont traités par les composés selon l'invention pendant 24 ou 72 heures par voie orale (gavage), 2 fois par jour.

3/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

24 ou 72 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés sont tués par une overdose de pentobarbital.

Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires ont été mesurées et le

volume de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés par la formule suivante (Volume de l'infarctus corrigé = Volume de l'infarctus - (volume de l'hémisphère droit - volume de l'hémisphère gauche)) pour compenser l'œdème cérébral.

- 5 Dans les cas d'un traitement curatif (traitement de la phase aiguë), les animaux traités avec les composés selon l'invention ont des dommages au niveau cérébral réduit par rapport aux animaux non traités. En effet le volume de l'infarctus est diminué lorsque les composés selon l'invention sont administrés une ou plusieurs fois après l'ischémie-reperfusion.

10

Exemple 8 : Evaluation des effets protecteurs des composés selon l'invention dans un modèle animal d'athérosclérose :

- 15 Les composés selon l'invention de part leurs propriétés PPAR activatrices et antioxydantes ont une action bénéfique sur la progression de la plaque athéromateuse.

1/Traitement des animaux :

- 20 Les souris transgéniques Apo E2/E2 femelles âgées d'environ 2 mois sont maintenues sous un cycle lumière/obscurité de 12/12 heures à une température constante de $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$ pendant la période d'acclimatation et toute la durée de l'expérimentation.

- Après la période d'acclimatation d'une semaine, les souris sont pesées et rassemblées par groupes de 8 animaux sélectionnés de sorte que la distribution de leur poids corporel soit uniforme.

- 25 Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture, ils sont soumis à un régime alimentaire de type western contenant 21% de graisse et 0,15% de cholestérol pendant une période de deux semaines avant traitement.

- A l'issue de cette période, les composés à tester sont introduits dans la nourriture aux doses indiquées. Le traitement dure 6 semaines.

- 30 Les animaux sont pesés et sacrifiés sous anesthésie, par dislocation cervicale.

- Le cœur est perfusé *in situ* puis préparé en vue de l'analyse histologique, une aiguille est introduite dans le ventricule droit et l'aorte est sectionnée dans sa partie abdominale
- Des échantillons de sang sont prélevés avant le début de l'expérience, chaque semaine puis à l'issue de l'expérience. Le sang est collecté sur EDTA. Le plasma est préparé par centrifugation à 3000 tours/minutes pendant 20 minutes (mesures des taux plasmatiques de cholestérol et de triglycérides).

10 2/Préparation des coupes en vue de l'analyse histologique :

Une solution Krebs Ringer est introduite pendant 10 minutes. Les tissus sont fixés avec du PAF 4% dans une solution 10mM de PBS à -4°C pendant une nuit. Les échantillons sont ensuite lavés avec une solution 100mM de PBS les cœurs sont placés dans une solution 30% de sucrose-Tris pendant une journée puis immergés dans de l'OCT (tissue Teck) sous vide pendant 30 minutes puis dans un moule contenant de l'OCT, immergés dans de l'isopentane et refroidi avec de l'azote liquide. Les échantillons sont conservés à -80°C .

Des cryosections de $10\mu\text{m}$ d'épaisseur sont réalisées à partir de l'arc aortique jusqu'à disparition des valves. Elles sont collectées sur des lames recouvertes de gélatine.

3/Analyse histologique :

Les lames sont colorées avec une solution d'huile rouge et de l'hématoxyline de façon à différencier la partie médiane de l'intima. Les différents paramètres morphogéniques sont déterminés à l'aide d'un microscope Olympus et d'une camera couleur couplée au système d'analyse d'images Analysis. La quantification des surfaces lésées est réalisée de façon manuelle à l'aide d'une tablette graphique couplée au même système informatique.

La surface globale des lésions athéromateuses est exprimée en μM^2 , elle est comparée au groupe témoin. Les composés selon l'invention testés permettent une diminution significative de la surface des lésions traduisant une réduction de la progression des lésions.

BIBLIOGRAPHIE

- 5 Aebi, H. (1984). "Catalase in vitro." Methods Enzymol **105**: 121-6.
- Asset G, Staels B, Wolff RL, Bauge E, Madj Z, Fruchart JC, Dallongeville J. (1999). "Effects of Pinus pinaster and Pinus koraiensis seed oil supplementation on lipoprotein metabolism in the rat." Lipids **34**(1): 39-44.
- 10 Chang, R. C., P. Hudson, *et al.* (2000). "Influence of neurons on lipopolysaccharide-stimulated production of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha by cultured glia." Brain Res **853**(2): 236-44.
- Desvergne, B. and W. Wahli (1999). "Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism." Endocr Rev **20**(5): 649-88.
- 15 Dimagli, U., C. Iadecola, *et al.* (1999). "Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view." Trends Neurosci **22**(9): 391-7.
- 20 Farinelli, S. E., D. S. Park, *et al.* (1996). "Nitric oxide delays the death of trophic factor-deprived PC12 cells and sympathetic neurons by a cGMP-mediated mechanism." J Neurosci **16**(7): 2325-34.
- Flohe, L. and F. Otting (1984). "Superoxide dismutase assays." Methods Enzymol **105**: 93-104.
- 25 Gilgun-Sherki, Y., E. Melamed, *et al.* (2001). "Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier." Neuropharmacology **40**(8): 959-75.
- 30 Greene, L. A. and A. S. Tischler (1976). "Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor." Proc Natl Acad Sci U S A **73**(7): 2424-8.

- Guerre-Millo, M., P. Gervois, et al. (2000). "Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity." J Biol Chem **275**(22): 16638-42.
- 5 Habig, W. H. and W. B. Jakoby (1981). "Assays for differentiation of glutathione S-transferases." Methods Enzymol **77**: 398-405.
- Hourton, D., P. Delerive, et al. (2001). "Oxidized low-density lipoprotein and peroxisome-proliferator-activated receptor alpha down-regulate platelet-activating-factor receptor expression in human macrophages." Biochem J **354**(Pt 1): 225-32.
- 10 International Atherosclerosis Society "Harmonized Clinical Guidelines on Prevention of Atherosclerotic Vascular Disease" 2003.
- 15 Jurgens, G., H. F. Hoff, et al. (1987). "Modification of human serum low density lipoprotein by oxidation-- characterization and pathophysiological implications." Chem Phys Lipids **45**(2-4): 315-36.
- 20 Komuves, L. G., K. Hanley, et al. (2000). "Stimulation of PPARalpha promotes epidermal keratinocyte differentiation in vivo." J Invest Dermatol **115**(3): 353-60.
- Lebeau, J., C. Furman, et al. (2000). "Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids." Free Radic Biol Med **29**(9): 900-12.
- 25 Mates, J. M., C. Perez-Gomez, et al. (1999). "Antioxidant enzymes and human diseases." Clin Biochem **32**(8): 595-603.
- Morliere, P., A. Moysan, et al. (1991). "UVA-induced lipid peroxidation in cultured human fibroblasts." Biochim Biophys Acta **1084**(3): 261-8.
- 30

Paglia, D. E. and W. N. Valentine (1967). "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase." J Lab Clin Med 70(1): 158-69.

5 Ram VJ (2003). "Therapeutic role of peroxisome proliferator-activated receptors in obesity, diabetes and inflammation. Prog Drug Res. 60: 93-132.

10 Raspe, E., L. Madsen, *et al.* (1999). "Modulation of rat liver apolipoprotein gene expression and serum lipid levels by tetradecylthioacetic acid (TTA) via PPARalpha activation." J Lipid Res 40(11): 2099-110.

Rothwell, N. J. (1997). "Cytokines and acute neurodegeneration." Mol Psychiatry 2(2): 120-1.

15 Spiegelman B. M. (1998) "PPARgamma in monocytes: less pain, any gain?" Cell, 93(2):153-5

20 Spiegelman B. M. (1998) "PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. Diabetes. 47(4):507-14. Review.

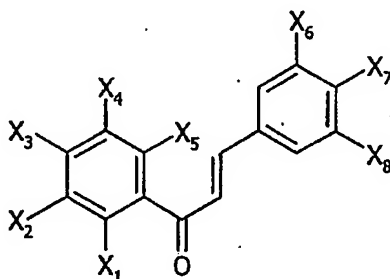
Spooner, R. J., A. Delides, *et al.* (1981). "Heat stability and kinetic properties of human serum glutathione reductase activity in various disease states." Biochem Med 26(2): 239-48.

25 Staels, B. and J. Auwerx (1998). "Regulation of apo A-I gene expression by fibrates." Atherosclerosis 137 Suppl: S19-23.

REVENDECATIONS

1. Composés dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués de formule générale (I) suivante :

5



(I)

10 dans laquelle :

X_7 représente un groupement répondant à la formule suivante : G_7-R_7 dans laquelle G_7 est un atome d'oxygène ou de soufre et R_7 est une chaîne alkyle substituée par un groupement du groupe 1 ou un groupement du groupe 2, R_7 peut éventuellement être également substitué par un groupement aryle, les substituants du groupe 1 sont choisis parmi les groupements carboxy de formule : $-COOR_a$, les groupements carbamoyles de formule : $-CONR_bR_c$ ou le groupement tetrazolyle, les substituants du groupe 2 sont choisis parmi l'acide sulfonique ($-SO_3H$) et les groupements sulfonamide de formule : $-SO_2NR_bR_c$, avec R_a , R_b et R_c , identiques ou différents, représentant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle substitué ou non,

les groupements X_i avec $i = 1, 2, 3, 4$ ou 5 , identiques ou différents, représentent un atome d'halogène ou un groupement thionitroso ou répondent respectivement à la formule $(G_i-R_i)_n-G'_i-R'_i$ dans laquelle :

25

▪ n peut prendre les valeurs 0 ou 1

- G_i et G'_i , identiques ou différents, représentent une simple liaison, un atome d'oxygène ou un atome de soufre,
- R_i et R'_i , identiques ou différents, représentent un radical alkyle, alkényle, aryle ou un hétérocycle,
- R'_i peut également représenter un atome d'hydrogène,

5

les groupements X_i avec $i = 6$ ou $i = 8$, identiques ou différents, représentent un atome d'halogène ou répondent à la formule $G'_i-R'_i$, G'_i et R'_i étant tels que définis précédemment, X_6 et X_8 ne représentant pas simultanément un atome d'hydrogène,

10

X_i avec $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$ ou 8 ne pouvant représenter un hétérocycle directement lié au cycle aromatique de la 1,3-diphényl prop-2-én-1-one,

à l'exclusion des composés de formule (I) pour lesquels simultanément :

15

- un des groupements X_1, X_2, X_3, X_4 ou X_5 est un groupement hydroxyle,
- G_7 est un atome d'oxygène,
- et un des groupements X_6 ou X_8 est un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un hydroxyle ou un groupement alkyloxy,

à l'exclusion des composés de formule (I) pour lesquels simultanément :

20

- les groupements X_1, X_2 et X_4 représentent simultanément un atome d'hydrogène,
- et un des groupements X_3 ou X_5 représente un atome d'hydrogène ou un halogène ou un radical alkyle ou un radical alkyloxy ou un radical alkylthio ou un groupement hydroxyle ou un groupement thiol ou un groupement thionitroso.

25

2. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que X_1 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.

30

3. Composés selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce que X_2 et X_4 sont des radicaux alkyle.

4. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que X_1 , X_3 et X_4 sont des radicaux alkyle.
5. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que X_1 , X_2 , X_4 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.
6. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que X_6 et X_8 sont des radicaux alkyle.
7. Composés selon la revendication précédente, caractérisés en ce que X_1 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.
8. Composés selon la revendication précédente, caractérisés en ce que X_2 et X_4 sont des radicaux alkyle.
9. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que X_1 , X_3 , X_4 , X_6 et X_8 sont des radicaux alkyle.
10. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que X_6 et X_8 sont des radicaux alkyles et X_1 , X_2 , X_4 et X_5 sont des atomes d'hydrogène.
11. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que X_3 qui représente un atome d'halogène ou un groupement thionitroso ou répond à la formule $(G_i-R_i)_n-G'_i-R'_i$ telle que définie dans la revendication 1, dans laquelle G'_i représente un atome d'oxygène ou un atome de soufre.
12. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'au moins un des groupements G_i ou G'_i représente un atome de soufre avec i pouvant prendre une des valeurs 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8.
13. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'ils sont choisis parmi :

- La 1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(4-(Cyclohexylthioéthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- 5 La 1-(4-Méthylthiophényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-dibromophényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(4-Hydroxy-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(4-Méthoxy-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- 10 La 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentoxy)-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- 15 La 1-(4-Bromophényl)-3-(4-carboxyphénylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(4-Mercapto-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(4-Méthylthio-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- 20 La 1-(4-Cyclohexyléthythio-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(4-Hexylthio-3,5-diméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- 25 La 1-(2,5-Dihydroxy-3,4,6-triméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(2,5-Diméthoxy-3,4,6-triméthylphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthoxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- La 1-(2,5-Dihydroxyphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,
- 30 La 1-(2,5-Diméthoxyphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one,

La 1-(4-Phényléthyloxyphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one, et

La 1-(4-(Morpholin-4-yléthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one.

5

14. Procédé de préparation de composés de formule (I) telle que définie dans l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend une mise en contact en milieu basique ou en milieu acide d'au moins un composé de formule (A) avec au moins un composé de formule (B), les formules (A) et (B) étant :

10



formules dans lesquelles X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 et X_7 ont les définitions données dans l'une des revendications précédentes, X_7 peut également représenter un groupement hydroxyle ou thiol.

15

15. Composés, caractérisés en ce qu'ils sont choisis parmi :

20

- 1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)prop-2-èn-1-one
- 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentyl)oxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl) -prop-2-èn-1-one
- 1-(4-Méthylthiophényl)-3-(4-hydroxy-3,5-dibromophényl)prop-2-èn-1-one

25

16. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes 1 à 15, à titre de médicaments.

30

17. Composition pharmaceutique ou cosmétique comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique ou cosmétique, au moins un composé de formule générale (I) tel que défini dans l'une des revendications 1 à 15, éventuellement en association avec un autre actif thérapeutique et/ou cosmétique.

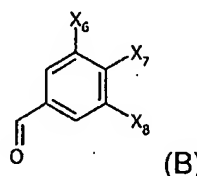
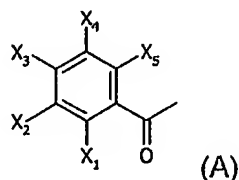
La 1-(4-Phényléthyloxyphényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one, et

La 1-(4-(Morpholin-4-yléthoxy)phényl)-3-(4-carboxydiméthylméthyloxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one.

5

14. Procédé de préparation de composés de formule (I) telle que définie dans l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend une mise en contact en milieu basique ou en milieu acide d'au moins un composé de formule (A) avec au moins un composé de formule (B), les formules (A) et (B) étant :

10



formules dans lesquelles X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 et X_7 ont les définitions données dans l'une des revendications précédentes, X_7 peut également représenter un groupement hydroxyle ou thiol.

15

15. Composés, caractérisés en ce qu'ils sont choisis parmi :

- 1-(4-(Pentylthioéthoxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)prop-2-èn-1-one
- 1-(4-((R,S)-5-[1,2]dithiolan-3-ylpentyloxy)phényl)-3-(4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)-prop-2-èn-1-one
- 1-(4-Méthylthiophényl)-3-(4-hydroxy-3,5-dibromophényl)prop-2-èn-1-one

20

16. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes 1 à 13, à titre de médicaments.

25

17. Composition pharmaceutique ou cosmétique comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique ou cosmétique, au moins un composé de formule générale (I) tel que défini dans l'une des revendications 1 à 13, éventuellement en association avec un autre actif thérapeutique et/ou cosmétique.

30

- 5 18. Composition pharmaceutique ou cosmétique, selon la revendication 17, destinée au traitement des maladies cardiovasculaires, des dyslipidémies, du syndrome X, du diabète, de l'obésité, de l'hypertension, des maladies inflammatoires, des maladies dermatologiques (psoriasis, dermatites atopiques, acné...), des désordres liés au stress oxydatif, ou au traitement du vieillissement en général, en particulier du vieillissement cutané.

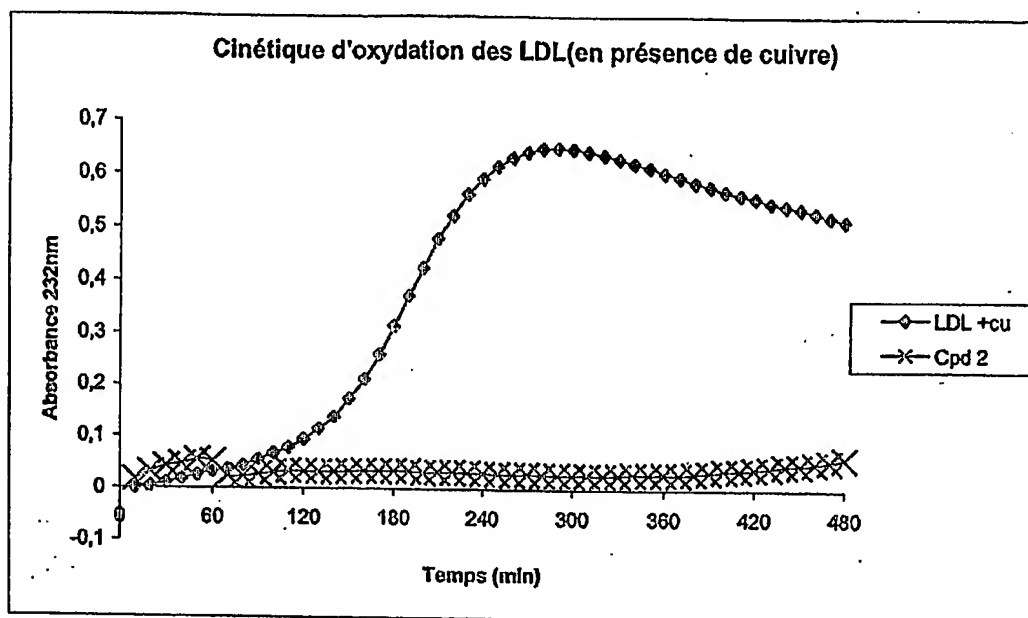


Figure 1a

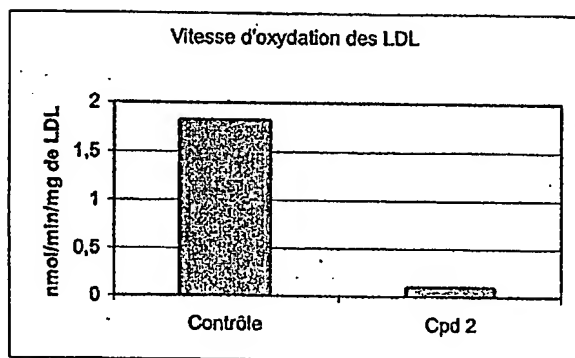


Figure 1b

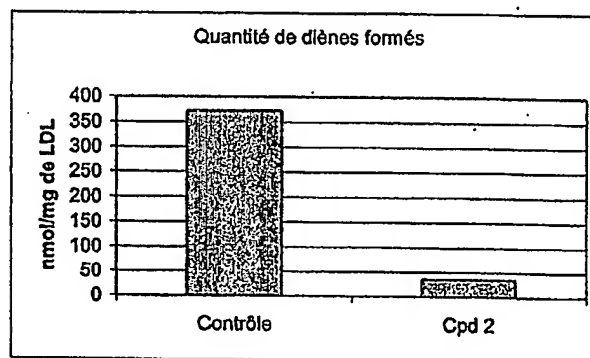


Figure 1c

Cinétique d'oxydation des LDL (en présence de cuivre)

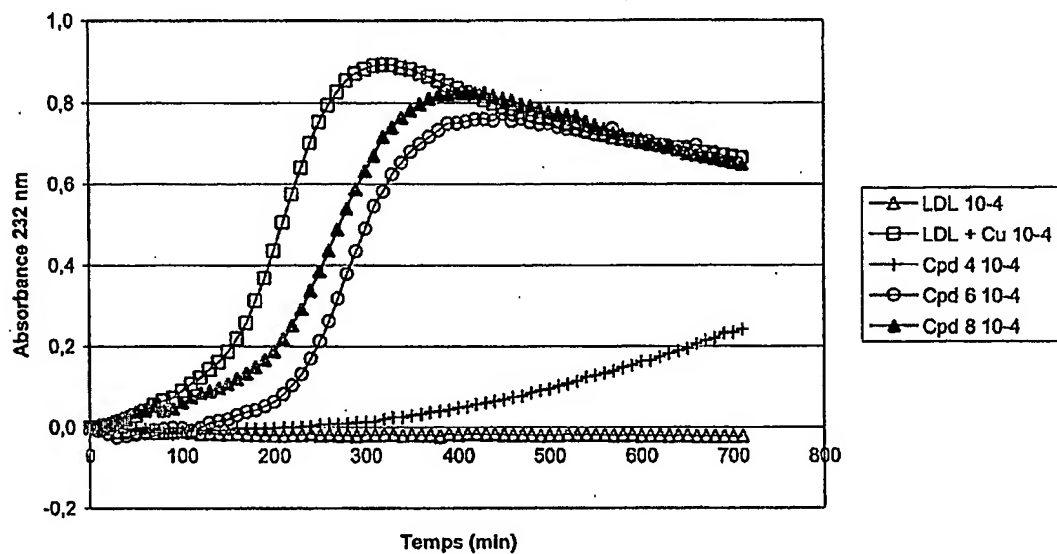


Figure 2a

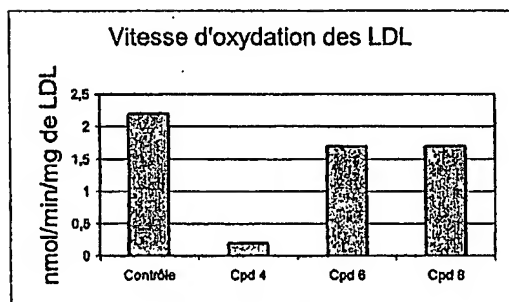


Figure 2b

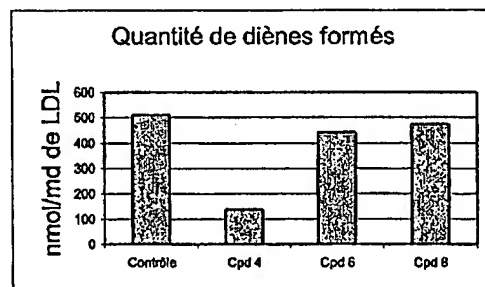
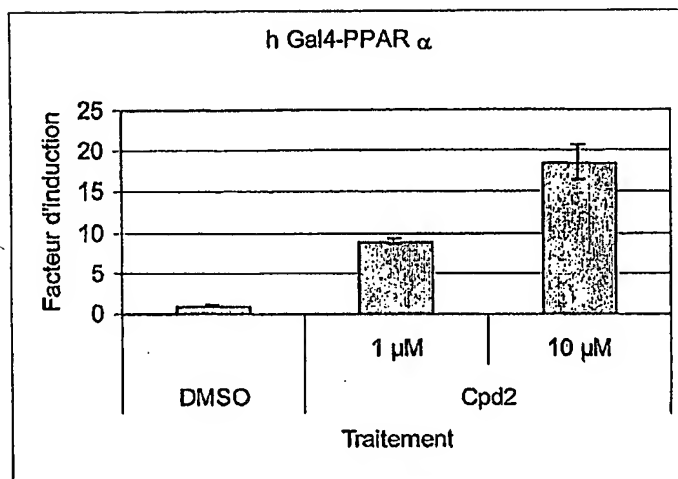
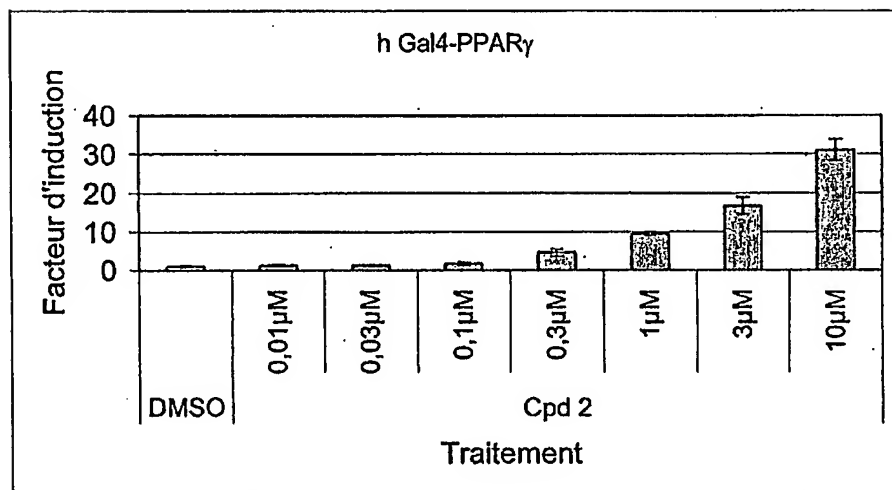
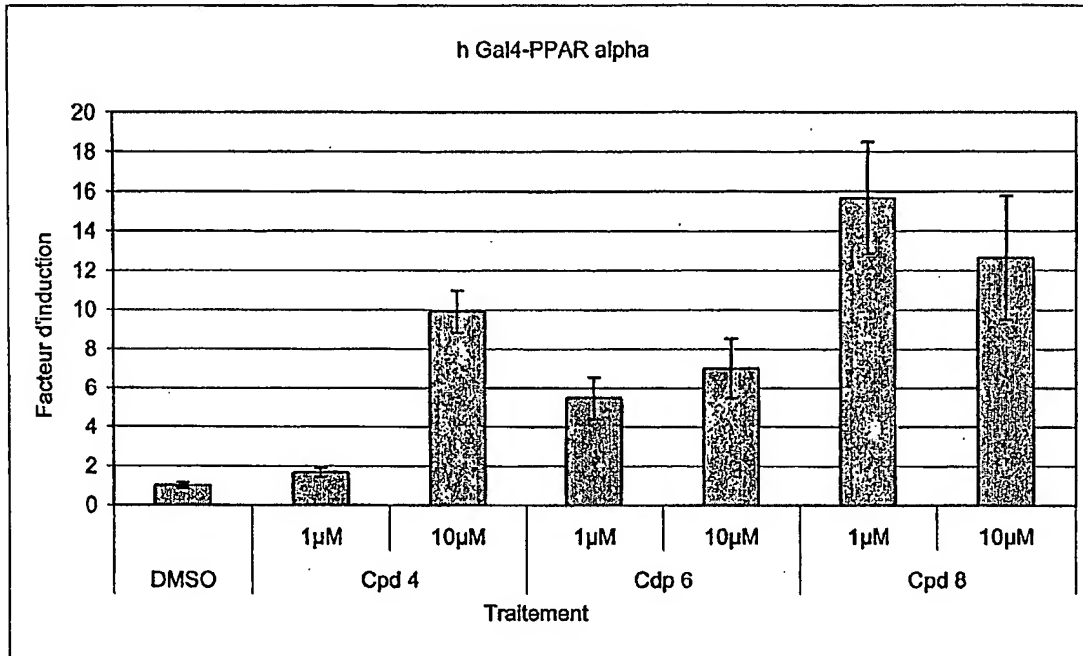
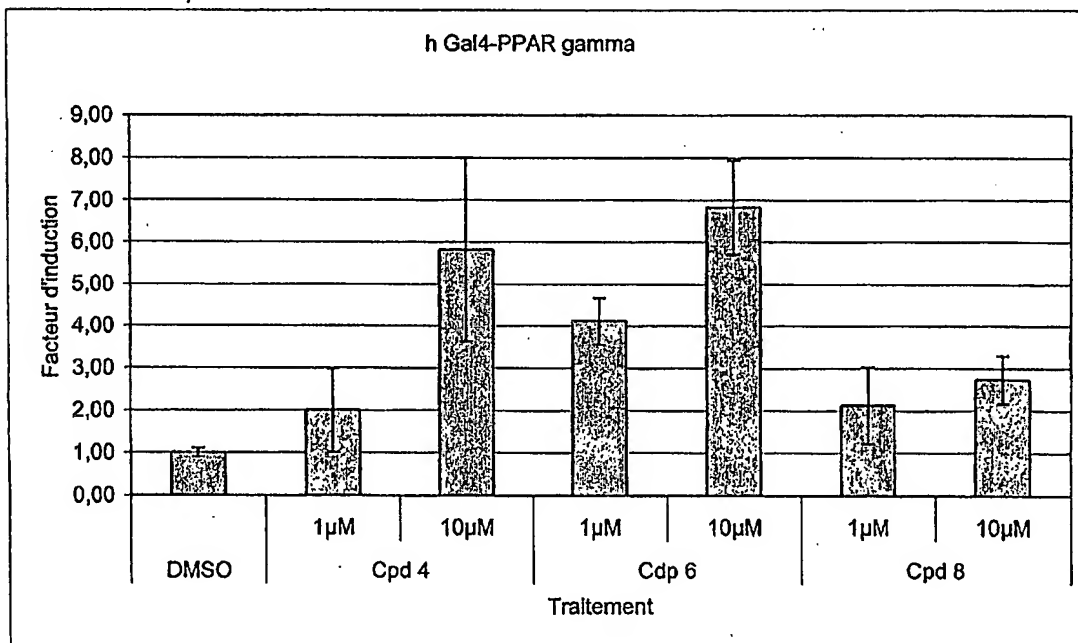


Figure 2c

3/6

Figure 3a - PPAR α Figure 3b - PPAR γ

4/6

Figure 4a - PPAR α Figure 4b - PPAR γ

5/6

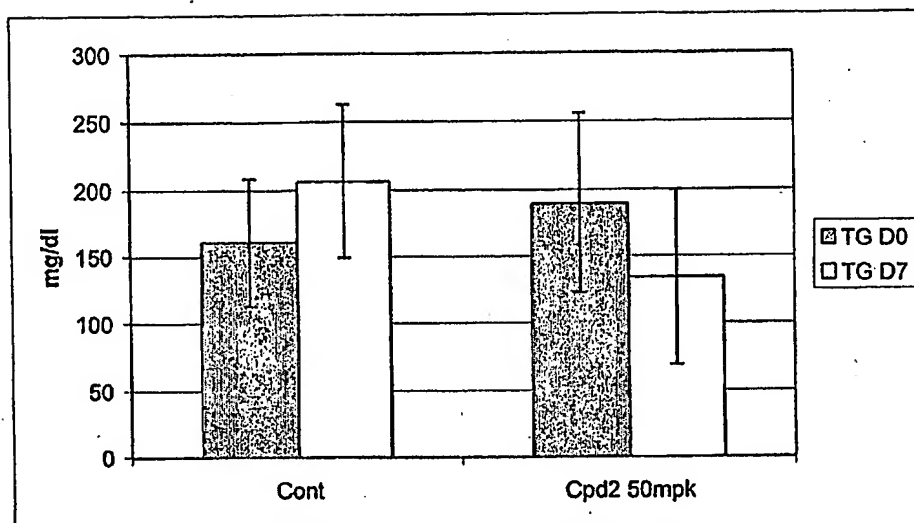


Figure 5a - Triglycérides totaux

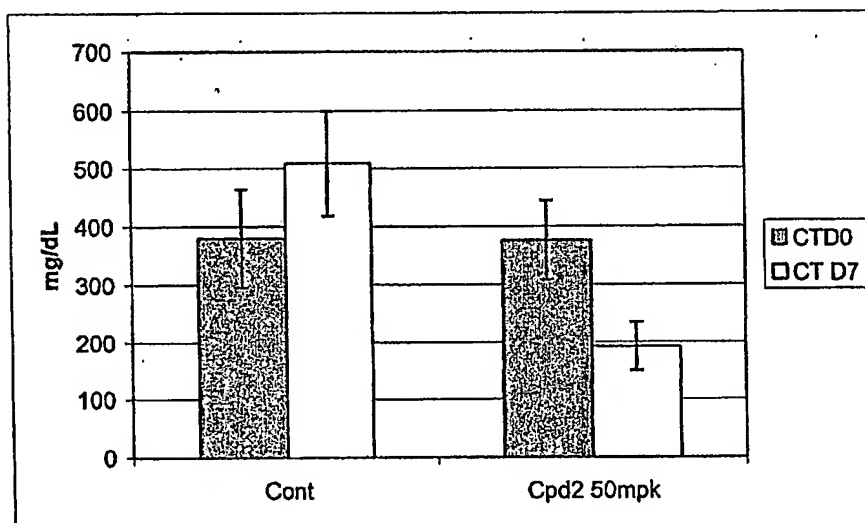


Figure 5b - Cholestérol total

6/6

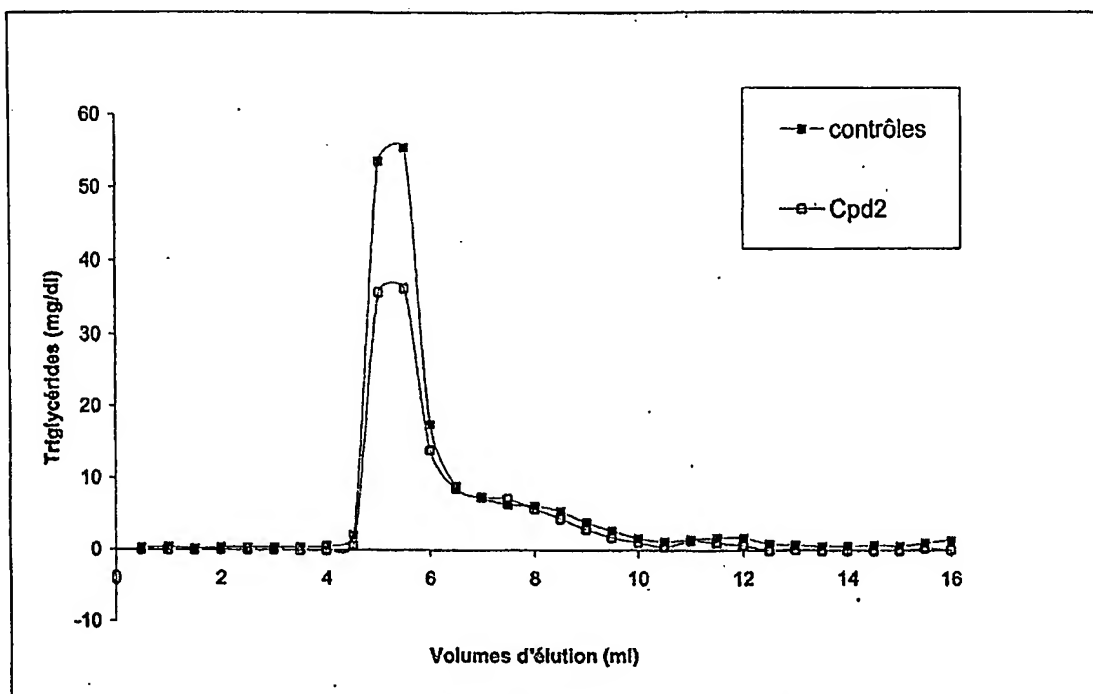


Figure 5c - Répartition des triglycérides

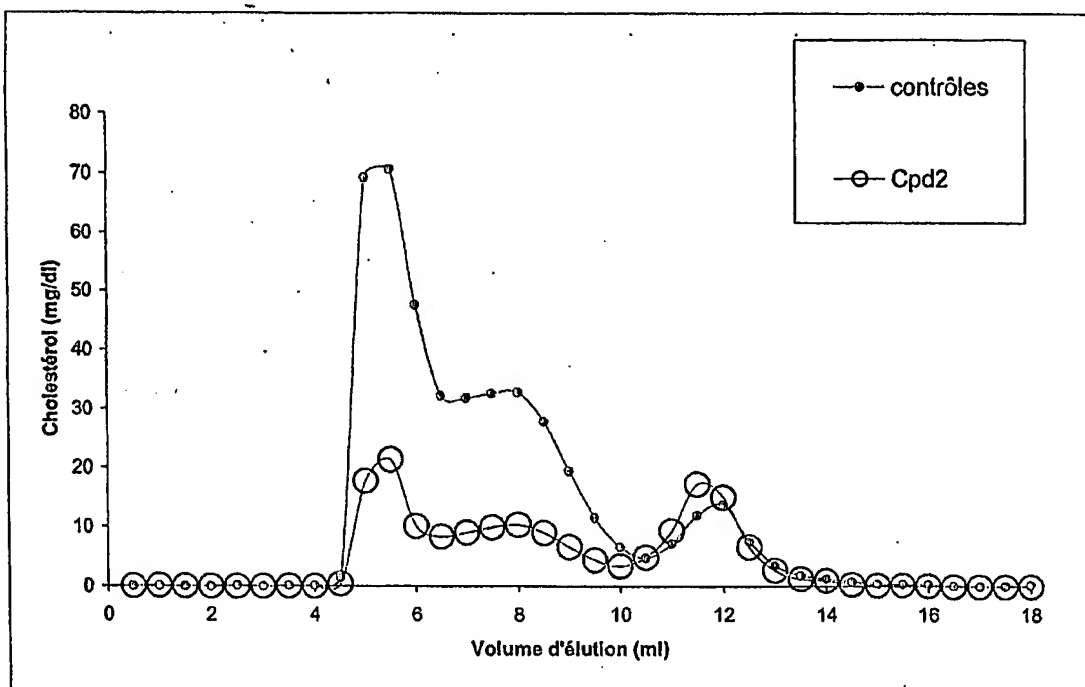


Figure 5d - Répartition du Cholestérol

reçue le 12/02/04



DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI




N° 11235°02

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1. / 1.

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260399

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B0255FR	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		04 00 123	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Composés dérivés de 1,3-diphénylprop-2-én-1-one, préparation et utilisations			
LE(S) DEMANDEUR(S) : GENFIT			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		CAUMONT-BERTRAND	
Prénoms		Karine	
Adresse	Rue	39, rue du pont rouge	
	Code postal et ville	59236	FRELINGHIEN
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		DELHOMEL	
Prénoms		Jean-François	
Adresse	Rue	2 le bois du Perroy	
	Code postal et ville	62144	ACQ
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) le 8 janvier 2004  TEZIER HERMAN Béatrice n° 00-10000			

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.